

САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Направление подготовки «Химия»

Выпускная квалификационная работа

Синтез тетразолильных аналогов природных
аминокислот

Студент 4 курса Мухаметшина А.В.

Уровень/ступень подготовки: бакалавр

Заведующий кафедрой: д.х.н., проф. Трифонов Р.Е.

Научный руководитель: к.х.н., доц. Попова Е.А.

г. Санкт-Петербург

2016 г

содержание

ВВЕДЕНИЕ	5
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	7
1.1. структурные типы тетразолов	7
1.2 синтез тетразолсодержащих аминокислот	10
1.2.1 тетразолильный фрагмент как изостер α -карбоксильной группы	11
1.2.2 α -тетразолилкарбоновые кислоты	15
1.2.3 тетразолильный фрагмент в боковой цепи аминокислот	19
1.2.4 тетразолильные аналоги непротеиногенных аминокислот	23
1.3 тетразолсодержащие аналоги и производные аминокислот, обладающие биологической активностью	26
1.3.1 действие на центральную нервную систему	28
1.3.2 действие на сердечно-сосудистую систему	30
1.3.3 противоопухолевое действие	31
1.3.4 действие на бактерии и вирусы	32
1.3.4 действие на бактерии и вирусы	33
2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	34
2.1 инструменты и методы	34
2.2 методика синтеза (2S)-2-амино-5-(1H-тетразол-1-ил)пентановой кислоты	34
2.2.1 получение медного комплекса L-орнитина	34
2.2.2 получение медного комплекса (2S)-2-амино-5-(ди-трет-бутилоксикарбонил)пентановой кислоты	35
2.2.3 разрушение медного комплекса и получение (2S)-2-(9H-флуорен-9-илметоксикарбонил)-5-ди-трет-бутилоксикарбонил)пентановой кислоты	35

2.2.4	получение трифторацетата (2S)-2-(9H-флуорен-9-илметоксикарбонил)-5-амино)пентановой кислоты	36
2.2.5	получение (2S)-2-(9H-флуорен-9-илметоксикарбонил)-5-(1H-тетразол-1-ил)пентановой кислоты.....	36
2.2.6	получение (2S)-2-амино-5-(1H-тетразол-1-ил)пентановой кислоты.....	37
2.3	методика синтеза диметилового эфира 2-(1H-тетразол-1-ил)пентановой кислоты ..	37
2.3.1	получение диметилового эфира 2-аминопентановой кислоты	38
2.3.2	получение диметилового эфира 2-(1H-тетразол-1-ил)пентановой кислоты	38
2.4	методика синтеза 3-(4-гидроксифенил)-2-(1H-тетразол-1-ил)пропановой кислоты.	39
3	ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	40
3.1	выбор модельных соединений	40
3.2	прогнозирование биологической активности.....	40
3.3	выбор методики синтеза тетразолильных аналогов природных аминокислот	44
3.4	выбор защитных групп	45
3.5	получение (2S)-2-амино-5-(1H-тетразол-1-ил)пентановой кислоты.....	46
3.5.1	образование медного комплекса L-орнитина	46
3.5.2	получение медного комплекса (2S)-2-амино-5-(трет-бутилоксикарбонил)пентановой кислоты	47
3.5.3	разрушение медного комплекса и получение (2S)-2-(9H-флуорен-9-илметоксикарбонил)-5-ди-трет-бутилоксикарбонил)пентановой кислоты	48
3.5.4	получение (2S)-2-(9H-флуорен-9-илметоксикарбонил)-5-амино)пентановой кислоты.....	49
3.5.5	получение (2S)-2-(9H-флуорен-9-илметоксикарбонил)-5-(1H-тетразол-1-ил)пентановой кислоты.....	50
3.5.6	получение (2S)-2-амино-5-(1H-тетразол-1-ил)пентановой кислоты.....	51
3.6	получение диметилового эфира 2-(1H-тетразол-1-ил)пентановой кислоты	53

3.6.1 получение диметилового эфира 2-аминопентановой кислоты	53
3.6.2 получение диметилового эфира 2-(1Н-тетразол-1-ил)пентановой кислоты	53
3.7 получение 3-(4-гидроксифенил)-2-(1Н-тетразол-1-ил)пропановой кислоты	55
ВЫВОДЫ	57
СПИСОК ЦИТИРОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	58
ПРИЛОЖЕНИЯ	63

ВВЕДЕНИЕ

Исследования в области фундаментальной нейрохимии позволили получить многочисленные данные по нейротрофическим ролям отдельных аминокислот. В деятельности мозга они имеют особое значение, выполняя роль нейромедиаторов, необходимы в профилактике ишемии и восстановлении после инсульта. Нарушение баланса содержания аминокислот и их производных в организме является одной из причин возникновения различных патологических процессов. В передаче нервных импульсов в ЦНС и на периферии принципиально важная роль принадлежит нескольким из них, которые прямо или косвенно воздействуют на функциональное состояние глутаматных рецепторов [1].

Глутаминовая кислота является наиболее распространённым возбуждающим нейротрансмиттером. Нервные импульсы стимулируют высвобождение глутамата внутрь синапса, который стимулирует глутамат-рецепторы постсинаптических клеток.

Орнитин - заменимая аминокислота, которая улучшает метаболизм мозга, способствует высвобождению гормона роста соматотропина и восстановлению поврежденных тканей.

Тирозин является предшественником норадреналина и дофамина, входит в состав белков всех известных живых организмов [2].

В последние десятилетия значительное внимание в фармацевтической промышленности уделяется разработке лекарственных средств на основе производных и аналогов природных аминокислот. Один из подходов при молекулярном дизайне таких биологически-активных веществ связан с введением в структуру соединений азотсодержащих гетероциклических фрагментов [3]. Одним из наиболее перспективных в данном контексте является тетразольный цикл. В ряду азолов, тетразолы обладают экстремальными свойствами. NH-незамещенные тетразолы являются достаточно сильными NH-кислотами, сопоставимыми по кислотности с карбоновыми кислотами и довольно слабыми бренстедовскими основаниями. Высокие метаболическая устойчивость и способность преодолевать биологические мембраны обеспечивают

использование тетразольного цикла в качестве биоизостера некоторых функциональных групп биологически активных соединений [4].

Различают более 20 видов биологической активности тетразолов: противомикробную, гипотензивную, противовирусную, антигистаминную, ноотропную и др. Установлено, что введение тетразолильного фрагмента в молекулу органического субстрата, как правило, приводит не только к повышению эффективности, но и увеличению пролонгируемости действия лекарственного средства. При этом не происходит увеличения острой токсичности [5].

В связи с тем, что тетразолсодержащие аналоги аминокислот и пептидов обладают ноотропной активностью, они могут быть использованы при создании лекарственных препаратов нового поколения, действующих на центральную нервную систему [4].

В рамках данной работы была проанализирована литература по синтезу и биологической активности тетразолильных аналогов аминокислот. Синтезированы и охарактеризованы тетразолильные аналоги L-глутаминовой кислоты, L-тирозина и L-орнитина как потенциальных транмиттеров. Кроме того, изучено влияние микроволнового излучения на образование тетразолильного аналога L-глутаминовой кислоты.

1 обзор литературы

1.1 структурные типы тетразолов

Тетразол – представитель пятичленных ароматических гетероциклов – азолов, содержит в своей структуре четыре атома азота. Его замещенные производные могут существовать в виде различных изомеров. Монозамещенные тетразолы имеют единственный заместитель в гетероцикле, который располагается в положениях 1 (1*H*-тетразолы, **1**), 2 (2*H*-тетразолы, **2**) и 5 (*NH*-незамещенные тетразолы, **3**). Производные, содержащие два заместителя – у одного из атомов азота и углерода одновременно 1,5- (**4**) и 2,5-изомеры (**5**), могут существовать в нейтральной форме. Для тризамещенных тетразолов известны 1,3,5-, 1,4,5- и 2,3,5-изомерные катионы **6-8** (катионы тетразолия) (Рис.1).

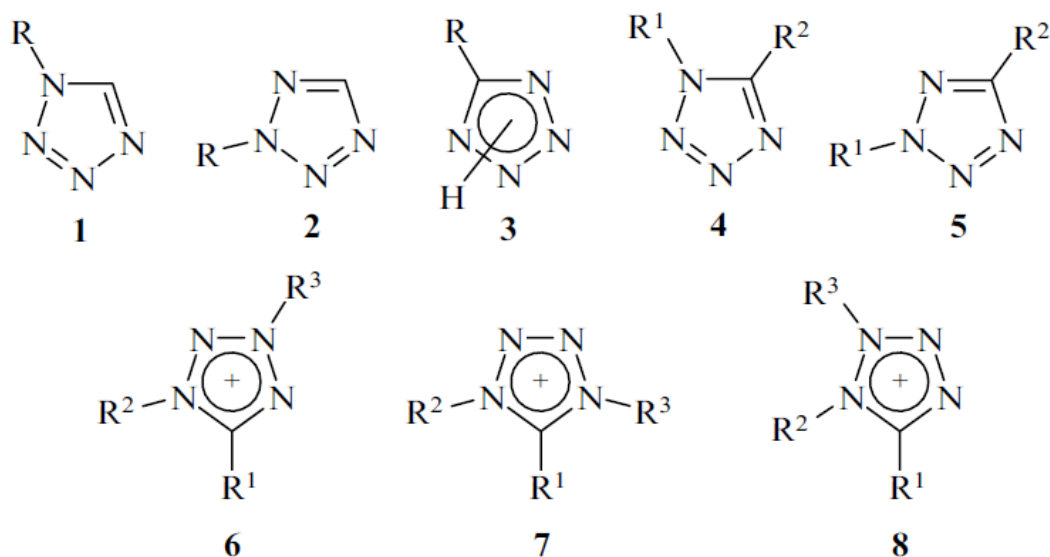


Рисунок 1. Структурные типы тетразолов.

Для *NH*-незамещенных тетразолов характерна аннулярная таутомерия. Природа заместителя определяет преимущественное содержание тетразолсодержащих субстратов в виде 1*H*- (**9**) или 2*H*-таутомера (**10**) (Схема 1).

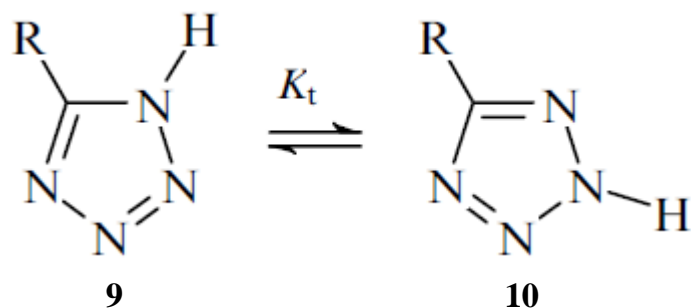


Схема 1.

Малополярный 2Н-таутомер **10** содержится преимущественно в газовой фазе и неполярных растворителях, тогда как 1Н-форма преобладает в кристаллическом состоянии и в полярных растворителях. В случае если заместителем у атома углерода тетразольного цикла является электрон-акцепторная группа, то в полярных растворителях наблюдается смещение равновесия в сторону 2Н-формы **10** [6,7]. Присутствие в гетероцикле функциональных заместителей способствует проявлению других видов таутомерии: amino-иминной, кето-енольной, тион-тиольной и т.д. Установлено, что 5-аминотетразолы в растворах и в кристаллическом состоянии преимущественно находятся в amino-форме **11**, а 5-гидрокси- и 5-сульфанилтетразолы – в кетонной и тионной формах **12** (Схема 2).

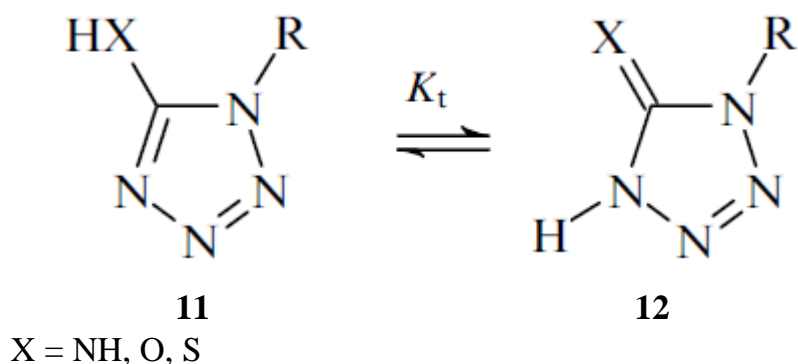


Схема 2.

Тетразолы – это весьма стабильные соединения, отличающиеся высоким значением запасенной химической энергии (энтальпии образования). Кроме того, они обладают сильными кислотными свойствами ($pK_a = 4.9$) и способны диссоциировать с образованием высокоароматичных тетразолатанионов (тетразолидов) **13** (Схема 3) [6,7].

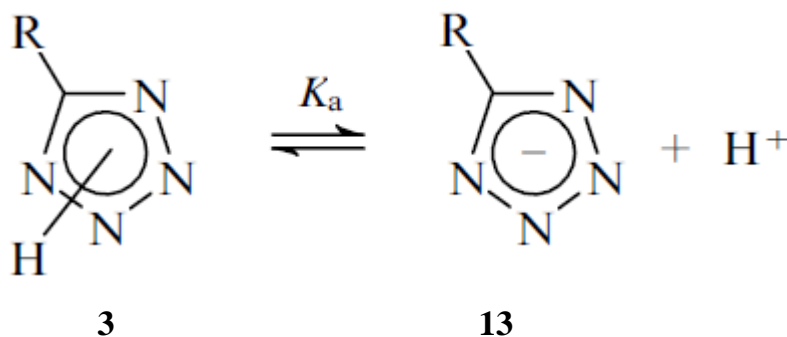


Схема 3.

Также тетразолы проявляют свойства слабых оснований ($pK_{BH^+} = -2.7$) [7], при протонировании которых возможно образование катионных 1-Н, 4-Н⁺ - (**14**) и 1-Н, 3-Н⁺ - форм (**15**) с преобладанием **14** формы по причине термодинамической стабильности (Схема 4).

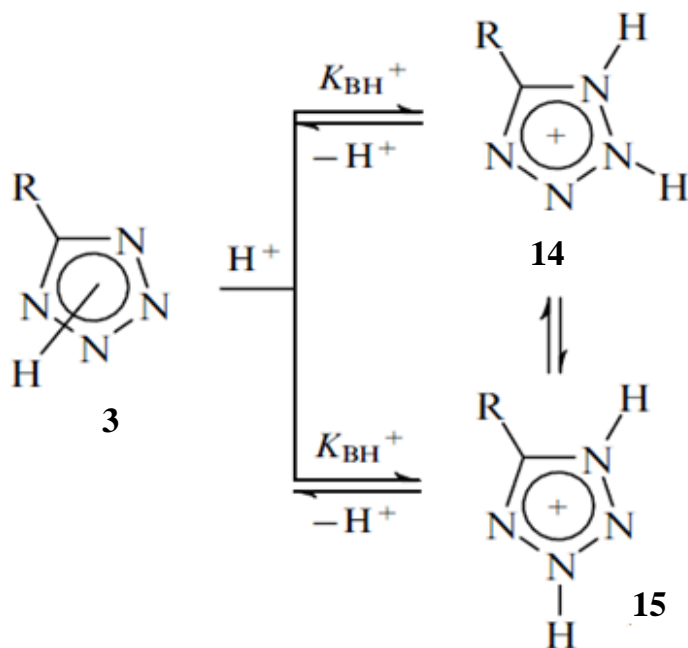


Схема 4.

Протонирование 1- и 2-замещенных тетразолов также приводит к 1-Н⁺, 3-R и 1-Н⁺, 4-R – изомерам.

Важным фактором, обуславливающим метаболическую активность тетразолсодержащих субстратов, является способность эндоциклических атомов азота образовывать водородные связи, участвующие в образовании устойчивых фермент-субстратных комплексов [8]. Кроме всего прочего, исследуемый класс соединений проявляет относительно низкую токсичность и взрывоопасность, по сравнению с линейными аналогами – азидами.

1.2 синтез тетразолсодержащих аминокислот

В зависимости от расположения функциональных фрагментов относительно асимметрического атома углерода тетразолсодержащих аминокислот различают следующие структурные типы: тетразолильный фрагмент, находящийся в α-положении по отношению к аминогруппе, в производных **16** (изостер карбоксильной группы); по отношению к карбоксильной группе – в производных **17** (замена аминогруппы) и в производных **18** в боковой цепи аминокислоты (замена других функциональных групп) (Рис.2). Также выделяют тетразолсодержащие аналоги непротеиногенных аминокислот (например, аналог γ-аминомасляной кислоты **19**, в котором тетразолильный фрагмент заменяет карбоксильную группу) [9].

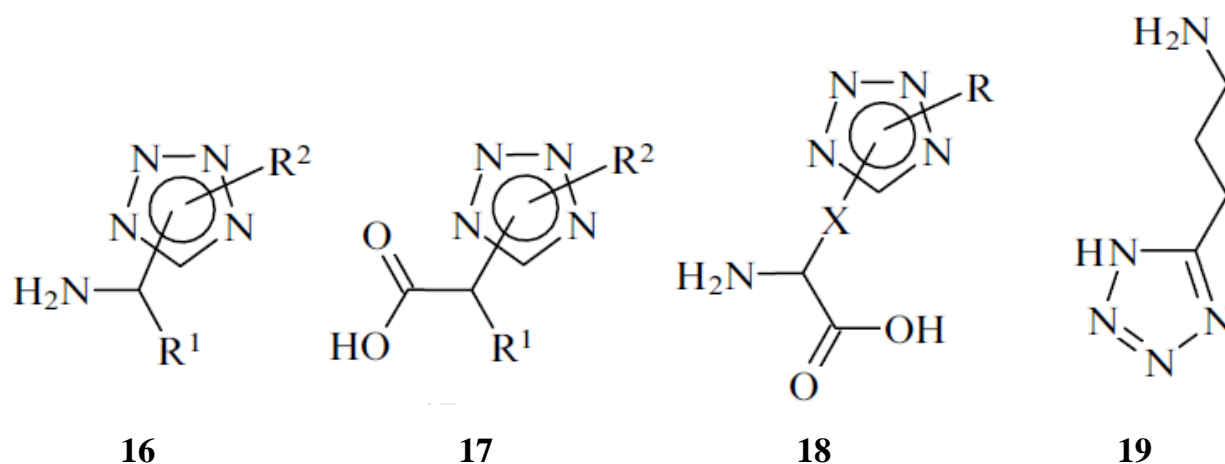


Рисунок 2.

1.2.1 тетразолильный фрагмент как изостер α -карбоксильной группы

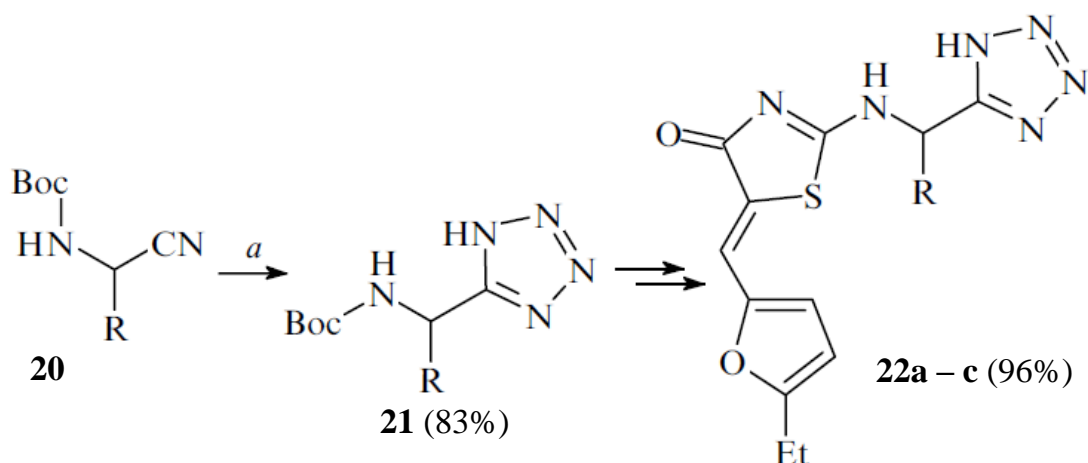
Модифицирование аминокислот, связанное с заменой карбоксильной группы на другие OH- и NH- кислотные фрагменты, зачастую позволяет получить соединения с ценными свойствами. Уже в 1941 г. были описаны аналоги глицина, аланина, валина и лейцина, содержащих вместо карбоксильной группы остаток сульфоновой кислоты [10], которые в отличие от природных аминокислот способны оказывать специфическое воздействие на некоторые бактерии. Основываясь на том, что величины NH-незамещенных тетразолов и карбоновых кислот близки (Табл. 1), позднее было предложено заменить карбоксильную группу в аминокислотах тетразол-5-ильным фрагментом.

Таблица 1. Константы кислотности аминокислот и их тетразолильных аналогов в воде при 25 °С.

Аминокислота	pK_a	Тетразолильный аналог	pK_a
Глицин	2.34	5-Аминометилтетразол	2.62
DL-Аланин	2.34	5-(1-Аминоэтил)тетразол	2.63
β -Аланин	3.60	5-(2-Аминоэтил)тетразол	3.99
DL-Фенил- аланин	1.83	5-(1-Амино-2-фенилэтил)тетразол	1.93

В тоже время тетразолильный цикл представляет собой ароматическую планарную систему, обладающую существенно более высокой липофильностью, чем карбоксильная группа [11-14]. Данное преимущество способствует облегчению преодоления биологических мембран без снижения активности. Структурные особенности, а также возможность использования тетразолильных фрагментов в качестве биоизостеров карбоксильных групп подробно изучены и описаны в публикациях [15-19].

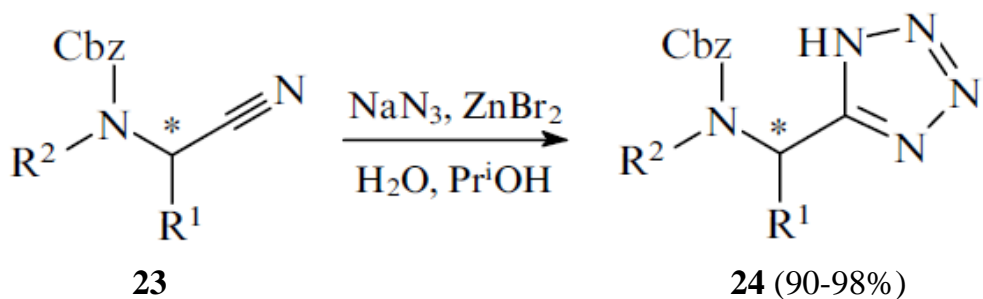
Известны различные подходы к синтезу тетразолсодержащих аналогов аминокислот. Образование тетразольного цикла является одной из ключевых стадий. К наиболее распространенным методом получения 5-замещенных NH-тетразолов можно отнести азидирование нитрилов азидами алкиламмония, которые получают из соответствующих хлоридов алкиламмония и NaN_3 *insitu* [6]. Так, в работе [20] описано получение тетразолсодержащих аналогов N-Вос-защищенных (Вос-трет-бутилоксикарбонил) аминокислот **21** азидированием соответствующих нитрилов **20**. Дальнейшее модифицирование последних привело к соединениям **22** (Схема 5).



R = Ph (**a**), 4-MeC₆H₄ (**b**), 4-FC₆H₄ (**c**);
a – NaN_3 , $\text{Et}_3\text{N} \cdot \text{HCl}$, толуол

Схема 5.

Еще одним удобным способом получения 5-замещенных тетразолов, опубликованным Demko и Sharpless [21,22], является азидирование нитрилов в гидротермальных условиях в присутствии кислот Льюиса (ZnBr_2 , CdBr_2 и др.) по схеме 6. Данное химическое превращение осуществляется путем взаимодействия азида натрия с N-Cbz-защищенными (Cbz – бензилоксикарбонил) α -аминонитрилами **23** в присутствии ZnBr_2 в смеси вода – изопропиловый спирт. В ходе реакции образуются тетразолсодержащие аналоги N-бензилоксикарбониламинокислот **24** [23].



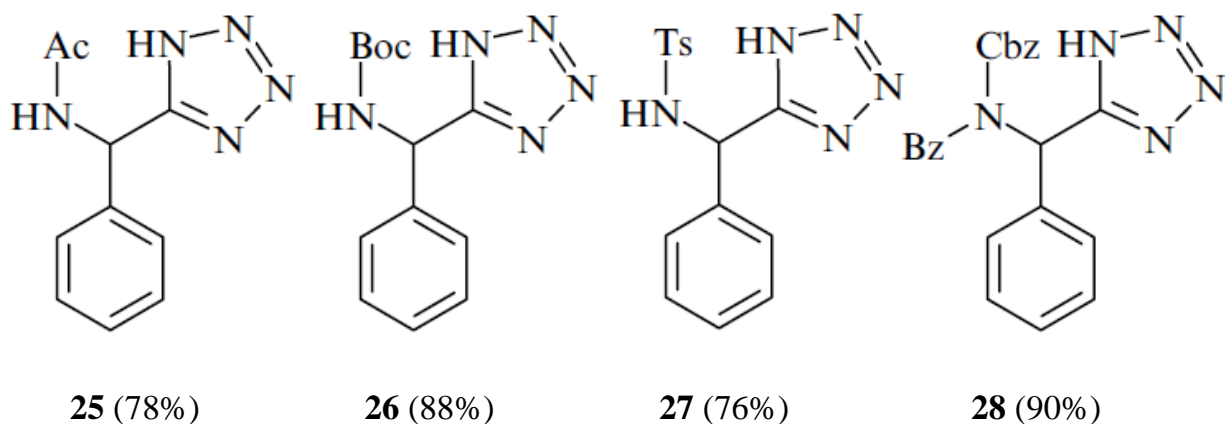
Рацематы – $\text{R}^2 = \text{H}$: $\text{R}^1 = \text{Me, Bu}^i, \text{Bn, CH}_2\text{OBn, (CH}_2)_2\text{SMe, Ph}$;

R-изомеры – $\text{R}^2 = \text{H}$: $\text{R}^1 = \text{Ph, CH}_2\text{SBn}$;

S-изомеры – $\text{R}^1 = (\text{CH}_2)_4\text{NHCbz, R}^2 = \text{H}$; $\text{R}^1 - \text{R}^2 = (\text{CH}_2)_3$

Схема 6.

Вместо бензилоксикарбонильной защитной группировки возможно использование других групп (Рис.3, структуры **25–28**). Однако, как отмечают авторы публикации [23], в этих случаях наблюдается снижение выхода продукта.



Ac – ацил, Ts – тозил (p-толуолсульфонил), Bz – бензил.

Рисунок 3.

Кроме того, наличие объемных заместителей также негативно сказывается на выходе целевых продуктов **29 – 31** [23].

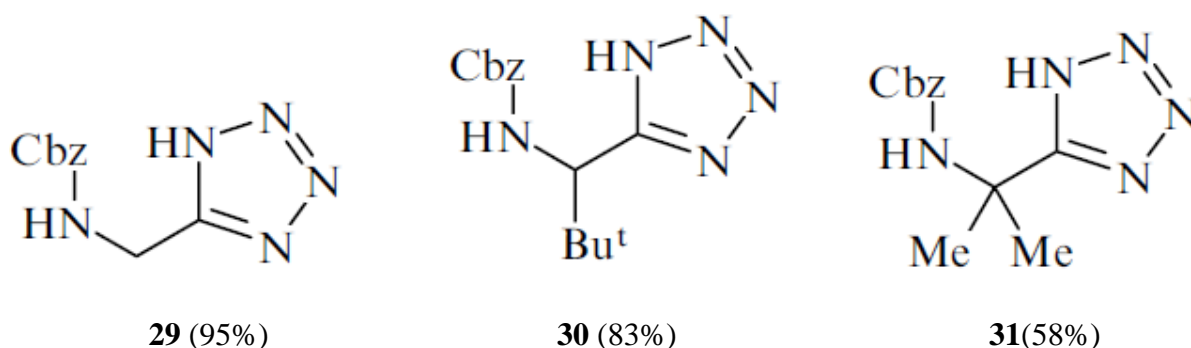


Рисунок 4.

Другим распространенным подходом к синтезу тетразолов является взаимодействие имидоилхлоридов с азотистоводородной кислотой или неорганическими азидами [6]. Этот метод использовался для получения аналогов глицина, DL-аланина и DL-фенилаланина по схеме 7 [24]. Авторы публикации, McManus и Herbst, указывают, что на первой стадии происходит взаимодействие N-бензил- α -хлорамидов **32a–c** и N-бензил- α -фталимидамидов **33a–c** с пентахлоридом фосфора, а после с азотистоводородной кислотой. В результате проведенных операций образуются 1,5-дизамещенные тетразолы **34a–c**. В первом случае дополнительно вводили аминогруппу реакцией с фталимидом калия **35**. Удаление бензильной защитной группировки позволило получить тетразолсодержащие аналоги аминокислот *rac*-**36a–c** с указанным выходом целевого продукта.

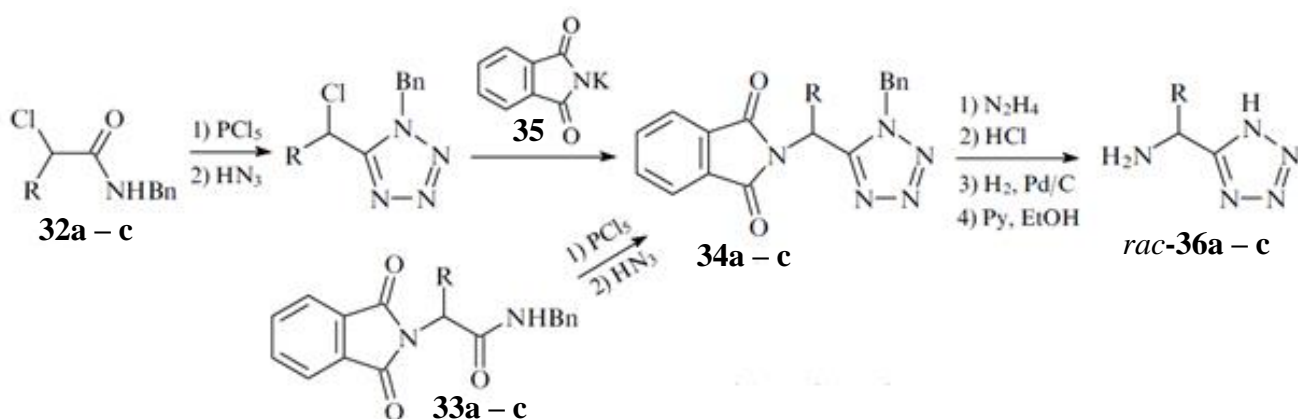


Схема 7.

1.2.2 α -тетразолилкарбоновые кислоты

Тетразолилкарбоновые кислоты могут рассматриваться в качестве аналогов аминокислот, в которых тетразолильный цикл находится в α -положении по отношению к карбоксильной группе. К таким соединениям можно отнести хорошо известные аналоги глицина – тетразол-1-ил- (**20**), тетразол-2-ил- (**21**), тетразол-5-илуксусные кислоты (**22**) и их производные. Последние выступают в качестве промежуточных соединений в синтезе многих биологически активных соединений [5,6].

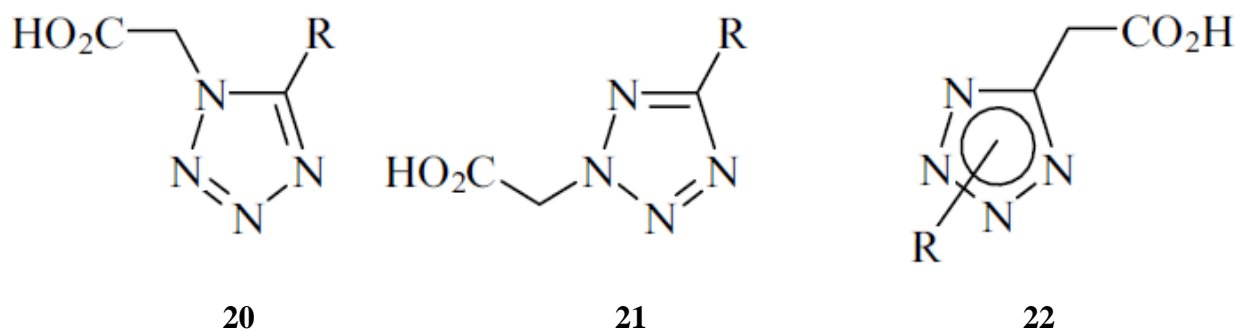


Рисунок 5.

Раар и Howard предложили рациональный способ синтеза тетразолилуksусных кислот, который заключался в алкилировании триэтиламмониевых солей 5-замещенных тетразолов эфирами галогенуксусных кислот по схеме 8. Выход и соотношение полученных региоизомеров **23a–j** и **24a–j** значительно зависели от природы заместителя R в тетразольном цикле (Табл. 2). Региоизомерные эфиры тетразол-5-илуксусной кислоты разделяли кристаллизацией и перегонкой.

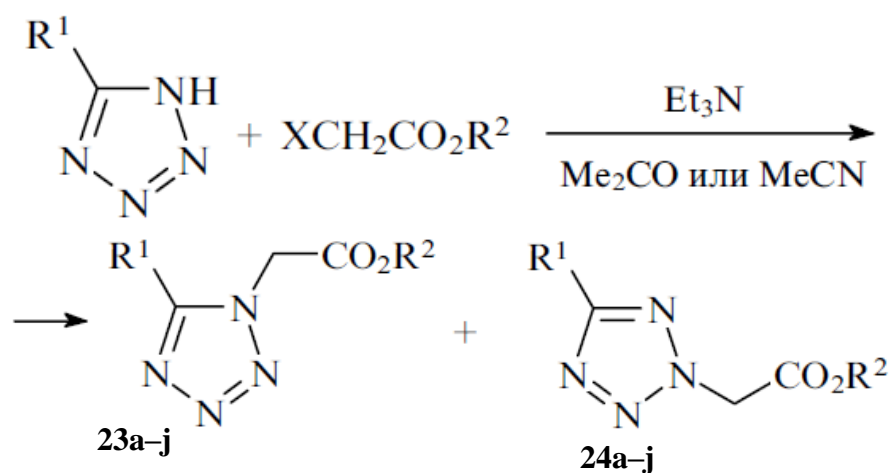


Схема 8.

Таблица 2. Выход и соотношение полученных региоизомеров 23a-j и 24a-j в зависимости от природы заместителя.

Соедине- ния 23, 24	R ¹	R ²	X	Выход, %	
				23	24
a	H	Et	Br	55	22
b	Me	Et	Br	49	22
c	Et	Et	Br	37	28
d	Pr ⁿ	Et	Br	46	26
e	Cl	Me	Cl	18	63
f	Cl	Et	Br	9	66
g	Br	Me	Cl	21	64
h	SMe	Et	Br	91	
i	SO ₂ Me	Et	Br	< 10	62
j	CF ₃	Et	Br	0	76

Следующим подходом к синтезу тетразол-5-илуксусных кислот является азидирование азотсодержащих субстратов. Известно два способа азидирования нитрилов. Первый классический – с аммонийазидами в апротонных диполярных растворителях, второй – по Демко и Шарплессу (использование азида натрия в

гидротермальных условиях в присутствии кислот Льюиса) [6]. С использованием второй методики был получен N-бензил-2-(1H-тетразол-5-ил)ацетамид **25** (Схема 9) [21].

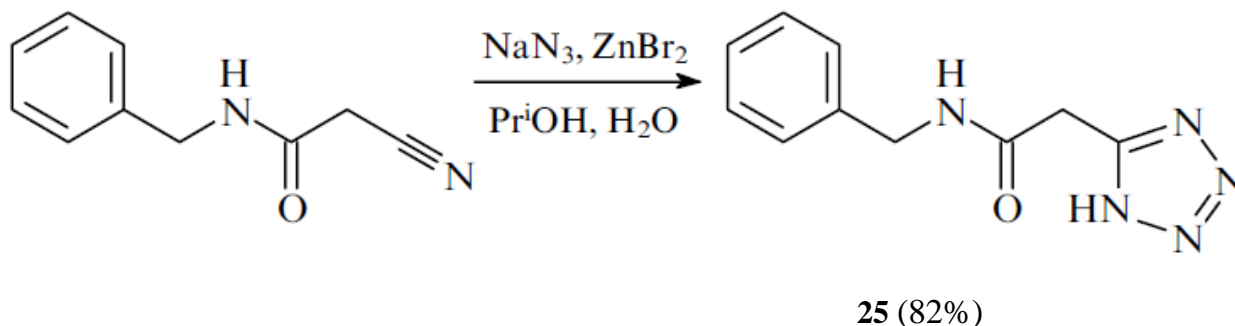


Схема 9.

Удобным методом синтеза производных тетразол-1-илуксусных аминокислот является гетероциклизация аминокислот с азидом натрия и ортомуравьиным эфиром [9,25]. Отмечается, что данный способ находит применение для синтеза широкого ряда тетразолильных аналогов аминокислот. Например, глицина, β -аланина, фенилаланина, валина, лейцина, тирозина и др. Во всех случаях выход продукта достигает 85%, кроме синтеза на основе триптофана **26** (выход соответствующего производного **27** составил 31%) (Схема 10).

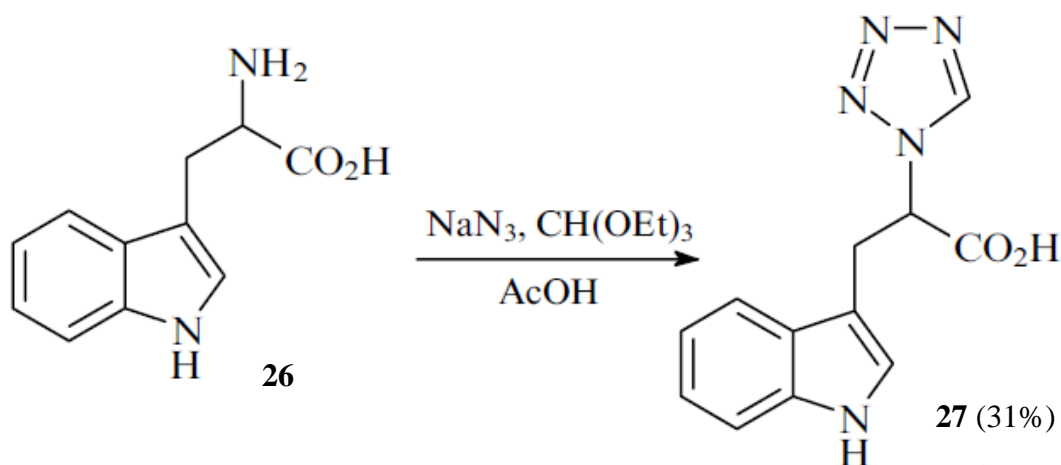


Схема 10.

К производным тетразол-1-илуксусным кислотам приводит также реакция Шмидта. В качестве примера этой именной реакции выступает взаимодействие α -диалкил- β -кетозэфиров **28** и триметилсилилазида в присутствии кислот Льюиса [26]. Таким способом Cristau и соавторами был получен ряд производных этилового эфира тетразол-1-илуксусной кислоты **29a–d** (Схема 11).

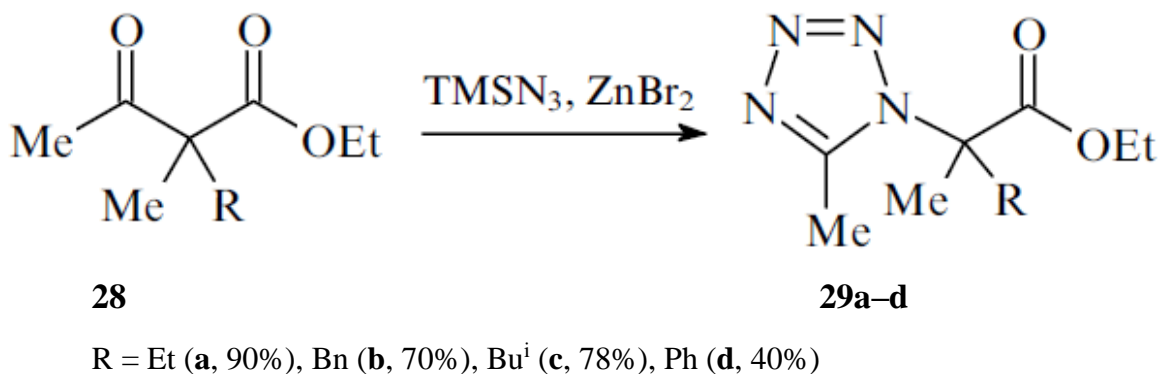


Схема 11.

В последние два десятилетия появилось большое количество работ, посвященных синтезу и исследованию свойств комплексных соединений ионов металлов, в которых в качестве лигандов выступают тетразолилуксусные кислоты (в том числе комплексы **30**, **31**) [27-29] (Рис.6).

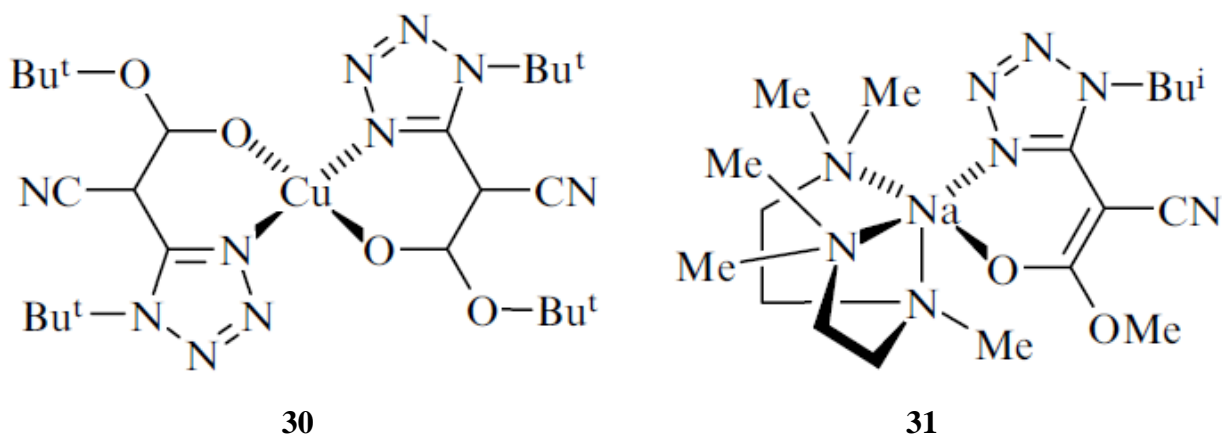


Рисунок 6.

В данных структурах **30** и **31** координация происходит не только за счет ориентирования к центральному атому металла атомов азота пиридинового типа в тетразолильном фрагменте, но и атомов кислорода карбоксильной группы. Многообразие формирующихся при этом структур исходит из различных способов координации с участием атомов азота или кислорода.

Интересное влияние на свойства хитозана **32** описали Yang и соавторы в работе [30]. Установлено, что введение 1H-тетразол-1-илуксусной кислоты в его структуру приводит к улучшению проводимости полимера **33**, к увеличению механической прочности и устойчивости к окислению (Схема 12).

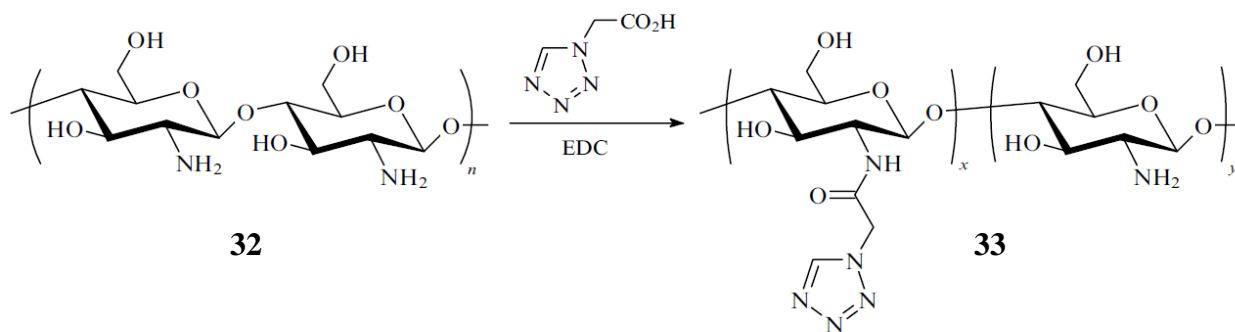
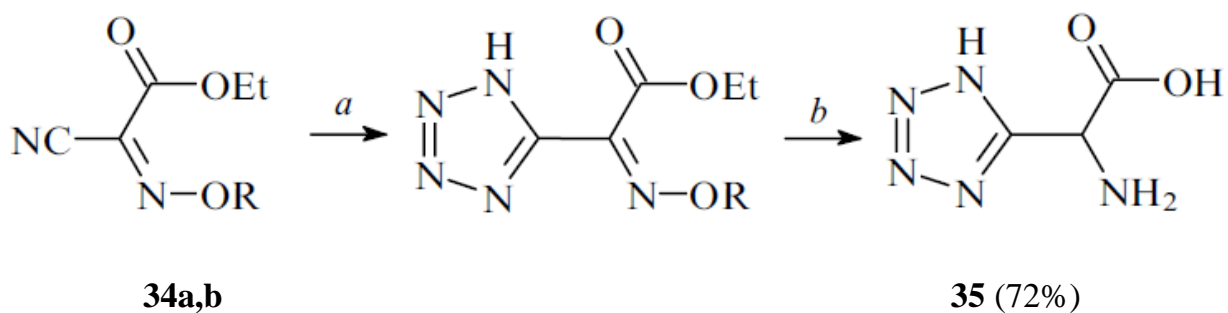


Схема 12.

1.2.3 тетразолильный фрагмент в боковой цепи аминокислот

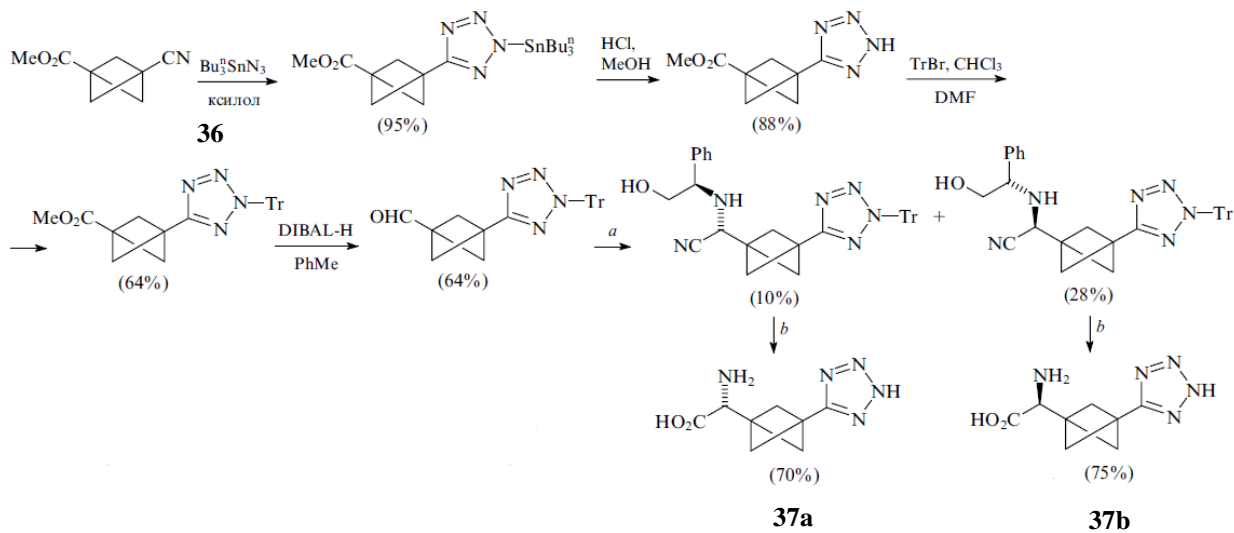
Тетразолильный фрагмент в соединениях данной структуры выступает в качестве функционального заместителя в боковой цепи α -аминокислоты. Из множества способов синтеза таких производных аминокислот самым распространенным является азидирование нитрилов. Так, взаимодействие этил-2-метоксимино-2-цианоацетата (**34a**) с NaN_3 или этил-2-метоксимино-2-цианоацетата (**34b**) с $\text{Bu}^n_3\text{SnN}_3$, последующие гидролиз сложноэфирной функции и восстановление гидрокси- или метоксиминной группы приводят к DL-тетразол-5-илглицину **35** (Схема 13) [31].



R = H (a), Me (b); a – для R = H: NaN₃, DMF (63%);
 для R = Me: 1) Buⁿ₃SnN₃; 2) HCl, H₂O, Et₂O (77%);
 b – 1) NaOH (водн.), затем HCl (водн.) (84 – 99%); 2) H₂, Pt₂O, H₂O

Схема 13.

Азидированием нитрила **36** три-*n*-бутилстаннилизидом в ксилоте были получены диастереомеры 2-[3-(2H-тетразол-5-ил)бицикло[1.1.1]пент-1-ил]глицина **37a,b** по схеме 14 [32].



a – 1) (R)-2-фенилглицинол, MeOH; 2) TMSCN; 3) флэш-хроматография;
 b – 1) Pb(OAc)₄, CH₂Cl₂, MeOH; 2) 6M HCl; 3) Dowex 50X2-200, 10% Py; DIBAL-H – диизобутилалюминийгидрид

Схема 14.

Ма и Tian в работе [33] использовали подобную методику для получения производных ароматических аминокислот, содержащих тетразолильный цикл в качестве заместителя в бензольном кольце. Авторами был разработан метод асимметрического синтеза аналогов фенилглицина. При взаимодействии трифлата **38** с триметилсилилцианидом в присутствии палладиевого катализатора происходит образование нитрила **39**, азидирование которого три-*n*-бутилстаннилизидом приводит к (S)- α -метил-4-(тетразол-5-ил)фенилглицину **40** (Схема 15).

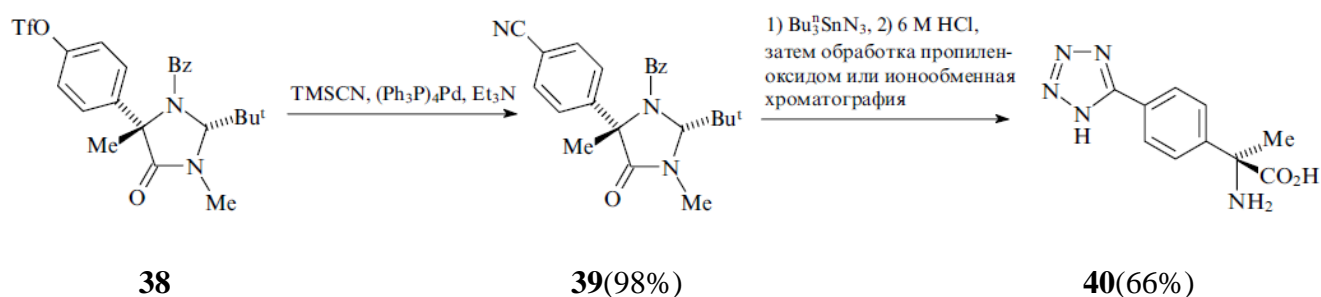


Схема 15.

В работе [34] описана реакция азидирования Fmoc-защищенного (9H-флуорен-9-илметоксикарбонил) L-(4-цианофенил)аланина **41** триметилстаннилизидом в толуоле (Схема 16), приводящая после подкисления к тетразолильному производному Fmoc-L-фенилаланина **42**.

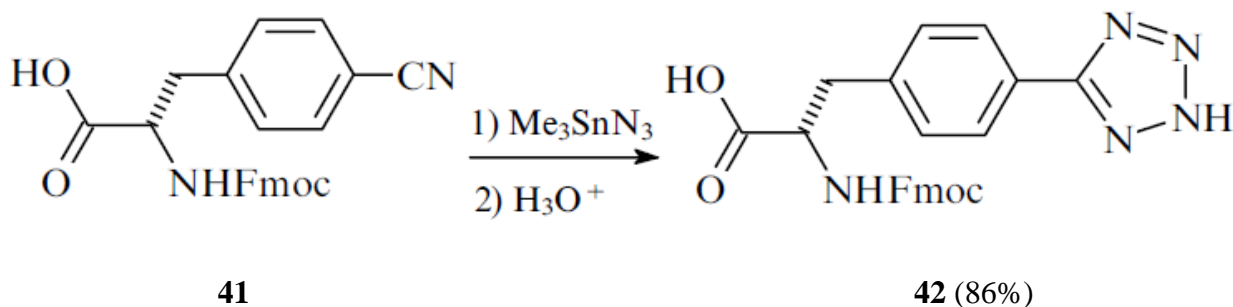


Схема 16.

Возможно также получение рассматриваемых тетразолильных производных аминокислот по методу, описанному в работе [35]. Авторы синтезировали 2-амино-3-(3-гидрокси-5-метилоксазол-4-ил)- (**43**) и 2-амино-3-(5-*трет*-бутил-3-гидроксиизоксазол-4-ил)пропионовые кислоты. В результате азидирования соответствующих нитрилов в ДМФА по схеме 17 полученные аналоги аминокислот содержали в боковой цепи два гетероциклических фрагмента – тетразольный и изоксазольный.

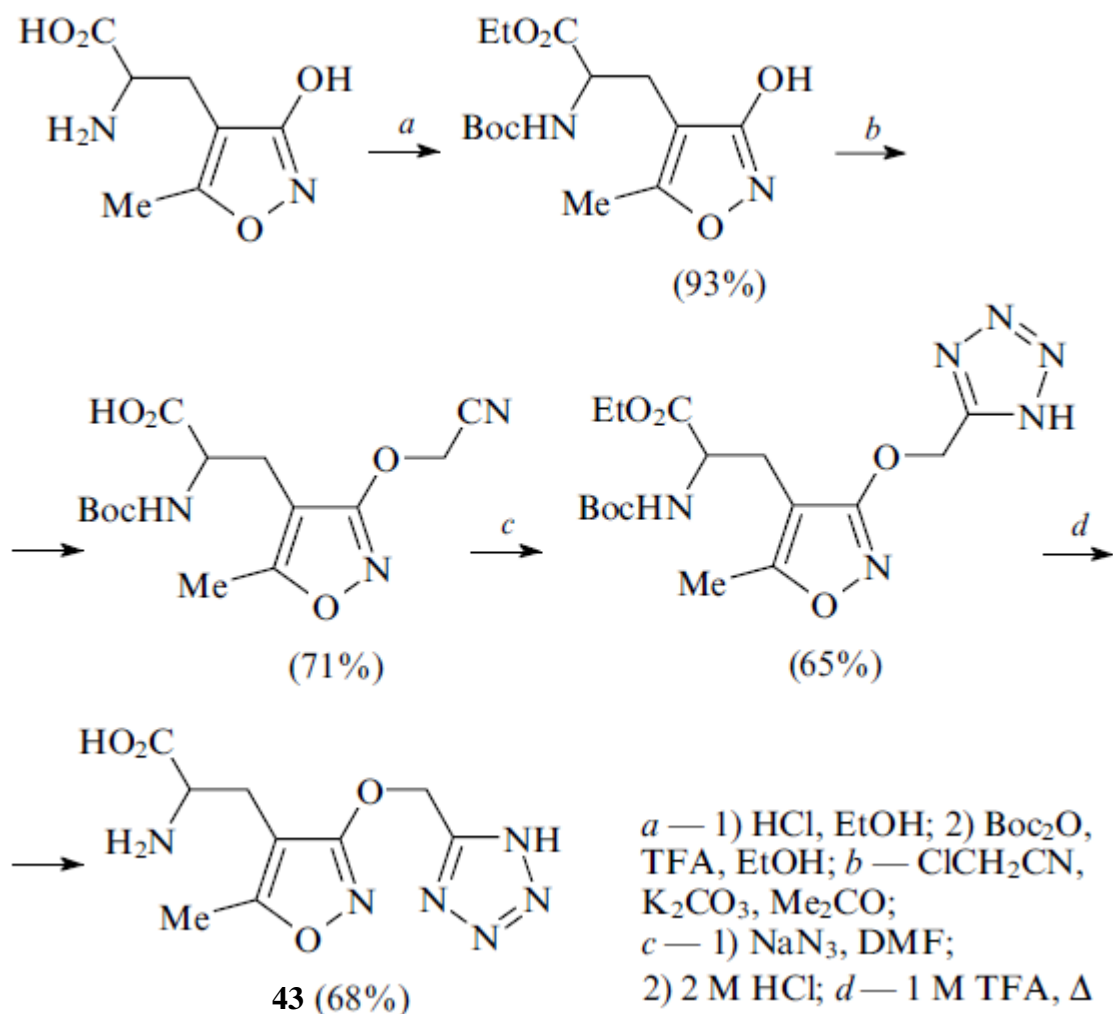
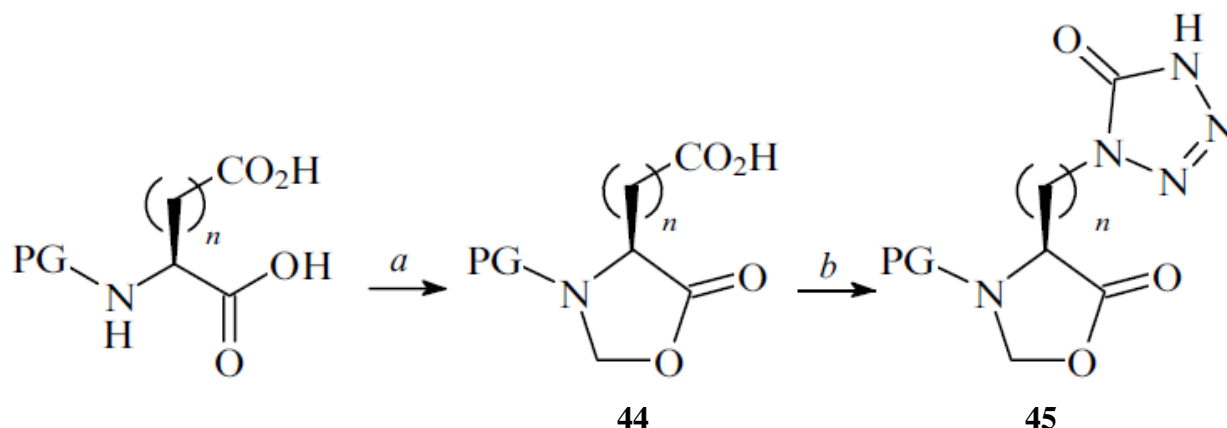


Схема 17.

Реакция N-защищенных α -аминокислот с параформом в присутствии *n*-толуолсульфокислоты под действием микроволнового излучения приводит к образованию оксазолидин-5-она **44** [36]. На следующей стадии синтеза Nagendra и

соавторы из соединения **44** синтезировали соответствующие изоцианаты, при азидировании которых триметилсилилазидом образовывались тетразолы **45** (Схема 18).

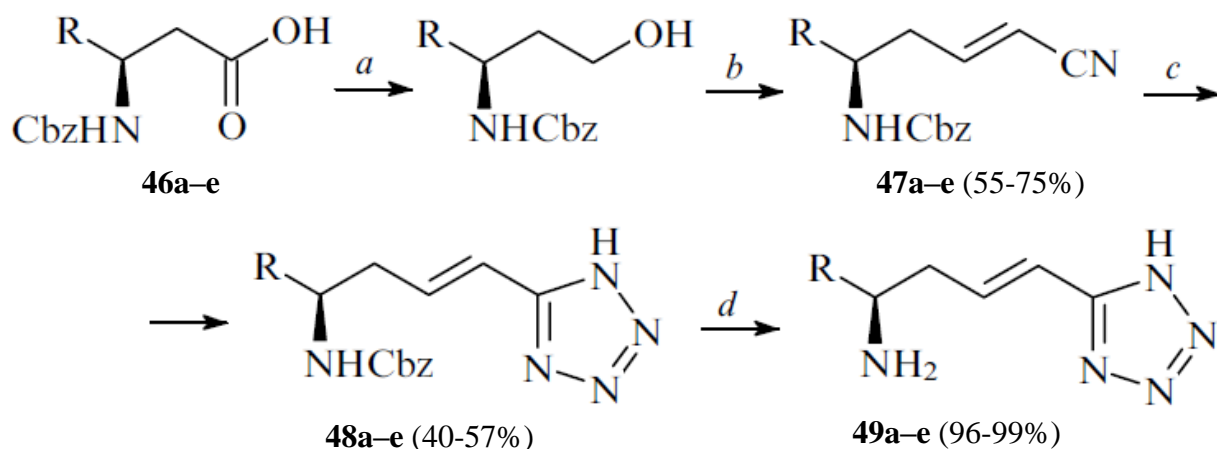


PG (protecting group) = Fmoc: n = 1 (79 – 81%), 2 (81 – 83%);
 PG = Cbz: n = 1 (91 – 93%), 2 (87 – 89%);
 a – TsOH, (HCHO)_n, PhMe, MW; b – 1) NMM, EtOC(O)Cl, THF;
 MW – микроволновое излучение, NMM – N-метилморфолин

Схема 18.

1.2.4 тетразолильные аналоги непротеиногенных аминокислот

Тетразолсодержащие аналоги эндогенных аминокислот принимают активное участие в различных физиологических процессах. Их синтез может быть осуществлен традиционными методами, описанными выше. Так, Moutevelis-Minakakis и соавторы синтезировали из оптически активных N-защищенных β-аминокислот **46a–e** нитрилы **47a–e** [37]. Азидирование последних в присутствии ZnBr₂ привело к соответствующим производным тетразола **48a–e**, а после удаления защитной группы образовывались тетразолсодержащие аналоги δ-аминокислот **49a–e** (Схема 19).



R = Buⁱ (**a**), CH₂OBn (**b**), Bn (**c**), (CH₂)₄NHCbz (**d**), (CH₂)₄NH₂ (**e**);

a – 1) ClCO₂Et, NMM, THF; 2) NaBH₄, MeOH;

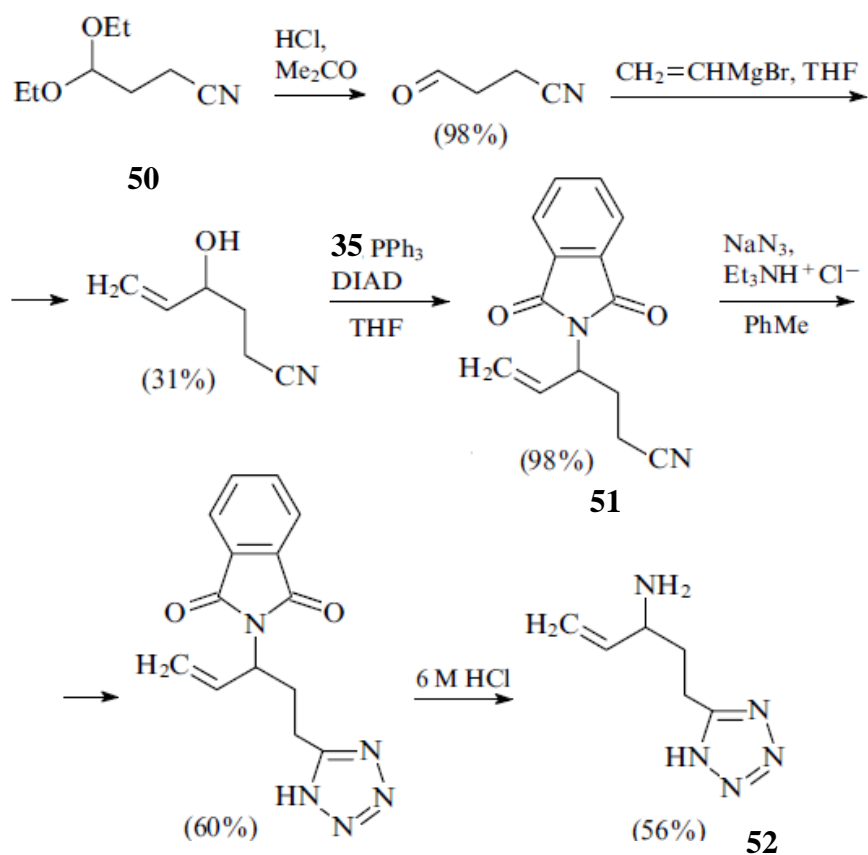
b – 1) NaOCl, AcNH-TEMPO, NaBr, NaHCO₃, EtOAc, PhMe, H₂O;

2) Ph₃P⁺C⁻HCN, THF; c – NaN₃, ZnBr₂, PrⁱOH, H₂O;

d – 10% Pd/C, MeOH; AcNH-TEMPO– 4-ацетамино-2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-оксил

Схема 19.

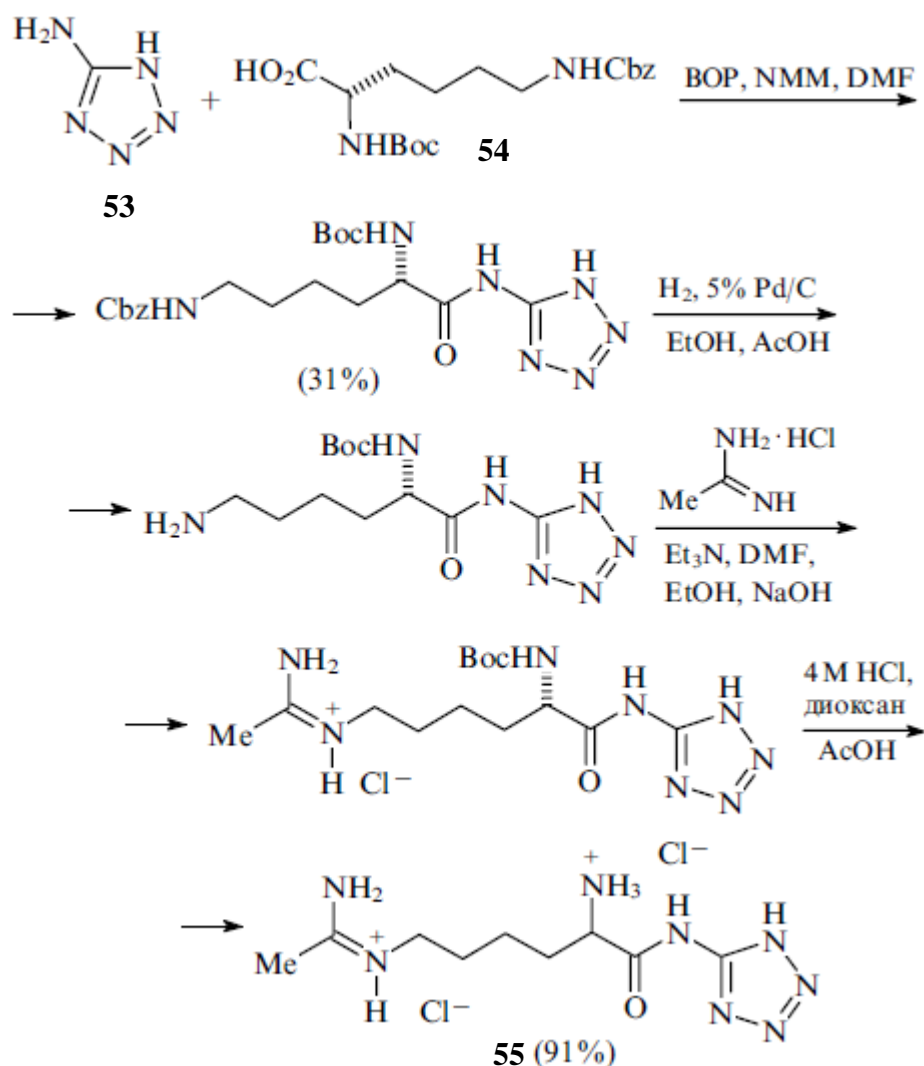
Еще одна методика получения тетразолильных аналогов непротеиногенных аминокислот описана авторами работы [38]. Из 4,4-диэтоксипутиронитрила **50** Yuan и Silverman в несколько стадий получили 4-фталимидогекс-5-енонитрил **51**, азидирование которого азидом натрия в присутствии хлорида триэтиламмония в толуоле дало 5-аминопропил-1H-тетразол **52** (Схема 20).



DIAD – диизопропилазодикарбоксилат

Схема 20.

Hallinan и соавторы [39] из 5 –аминотетразола **53** и производного лизина **54** синтезировали тетразол-5-ил-L-[N⁶-(аминоэтилиден)лизин]амид **55** по схеме 21.



BOP – гексафторофосфат бензотриазол-1-илокситрис(диметиламино) фосфония

Схема 21.

1.3 тетразолсодержащие аналоги и производные аминокислот, обладающие биологической активностью

Введение тетразолильных фрагментов в структуру биологически активных веществ, в том числе природных соединений, привело к их успешному модифицированию. Такие вещества входят в состав активных фармацевтических ингредиентов различных лекарственных препаратов.

Тетразольный цикл является метаболически устойчивым, и в зависимости от природы и положения заместителя могут изменяться его свойства (см. выше). Считая тетразолы биоизостерами карбоксильной группы, выделяют следующие очевидные пары структурных аналогов: тетразолат- и карбоксилат-анионы, 1Н-тетразолы и карбоновые кислоты, 1,5-дизамещенные 1Н-тетразолы и цис-амиды карбоновых кислот [7,40-42]. Как было отмечено выше NH-незамещенные тетразолы и карбоновые кислоты имеют похожие физико-химические характеристики [15,19]. Основываясь на том, что молекулы и функциональные группы, связанные водородными связями с 1Н-тетразолом и тетразолат-анионом, располагаются на расстоянии, большем на ~1,2 Å по сравнению с изостерическими фрагментами – группами COOH и COO⁻, тетразолильный цикл можно считать биоизостером фрагмента X – COOH (X – атом или группа атомов) (Рис.7).

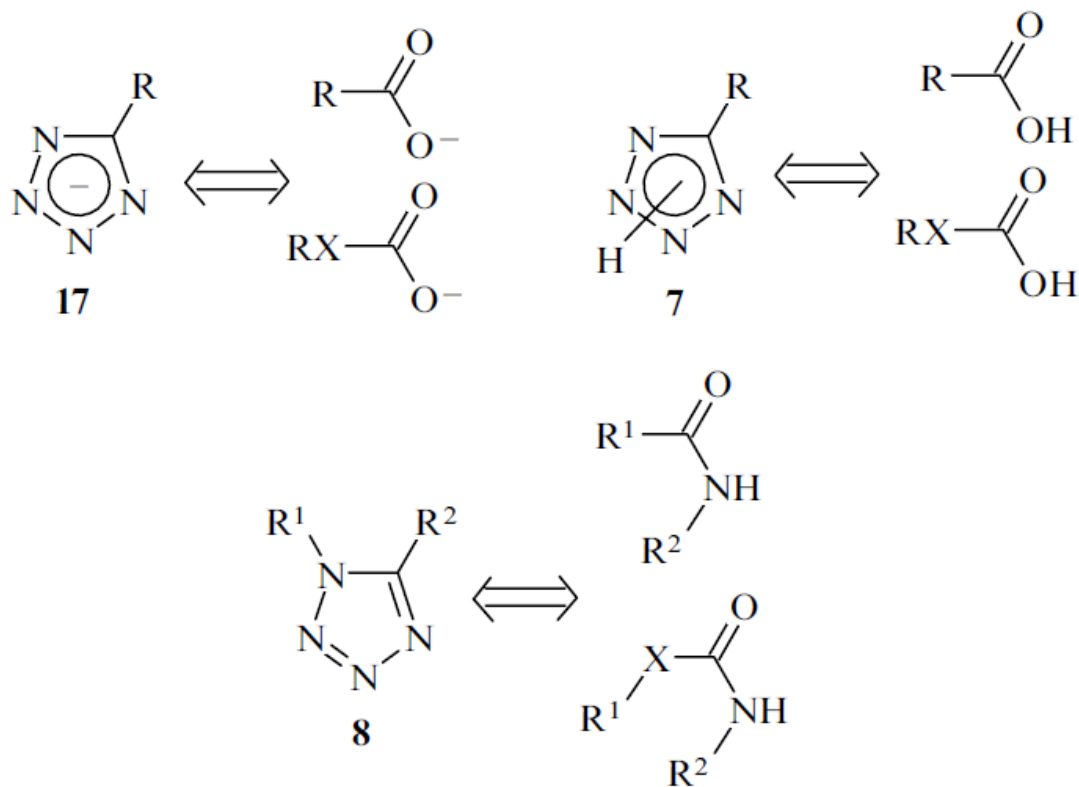


Рисунок 7.

1.3.1 действие на центральную нервную систему

Тетразолильные аналоги аминокислот исследованы в качестве лигандов глутаматных рецепторов. L-глутамат является основным медиатором проведения возбуждения в синапсах нервной системы позвоночных. Идентифицированы множественные глутамат-рецепторы, которые, кроме участия в быстром проведении возбуждения, являются критическим фактором в пластичности синапсов. От того, какая аминокислота (аргинин или глутамин) находится в трансмембранной области рецептора, зависит соотношение проницаемости мембраны Ca^{2+} /одновалентные катионы: глутамин обеспечивает высокую, а аргинин- почти нулевую проницаемость для Ca^{2+} . Нарушения проницаемости данных каналов приводят к ряду нейродегенеративных заболеваний, среди которых болезнь Паркинсона, паралич, эпилепсия [43].

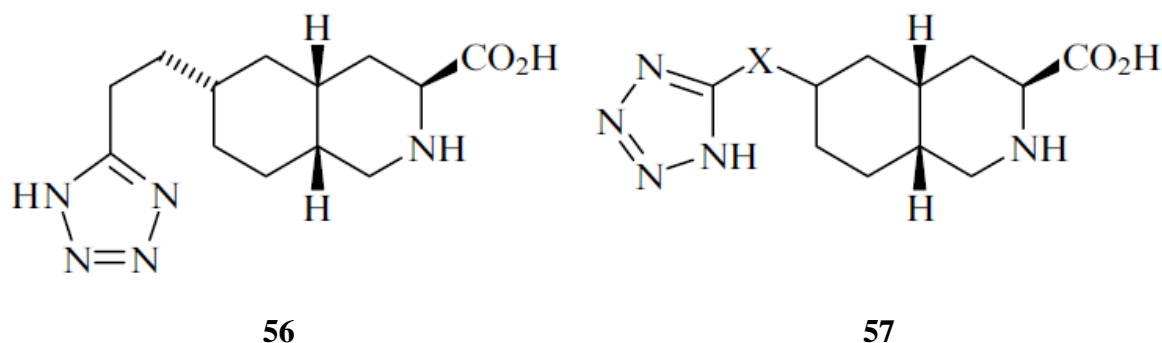
Глутаматные рецепторы подразделяют на:

-ионотропные (рецепторы-каналы, в эту группу входят рецепторы NMDA, AMPA, каинатный и L-AP4; названия рецепторов получены от соответствующих селективных агонистов);

- метаботропные (рецепторы GPCR).

И AMPA и NMDA рецепторы присутствуют в большинстве ЦНС, таким образом, активация этих рецепторов лежит в основе большинства быстрых процессов передачи сигнала в ЦНС. Активация рецептора глутаматом приводит к открытию канала рецептора для одновалентных и, в случае NMDA рецепторов, двухвалентных катионов.

В качестве лекарственных средств используют соединения, имитирующие действие глутаминовой кислоты на глутаматные рецепторы (агонисты), или соединения, избирательно блокирующие данные рецепторы (антагонисты) [44]. Наиболее известным антагонистом среди тетразолов является тетразол-5-илэтилдекагидроизохинолинкарбоновая кислота **56** [45], обладающая нейропротекторным и противосудорожным действием, известная под названием лекарственного препарата Tezampanel (LY-293558) [46-48].



57: X=S, NH, NHC(O), CH₂, CH(Me), CH₂CH₂ и др.

Рисунок 8.

Декагидроизохинолин-3-карбоновые кислоты типа **57** содержат в шестом положении фрагменты азотистых гетероциклов. Данные соединения были исследованы в качестве антагонистов NMDA- и AMPA-рецепторов [49,50]. Было установлено, что некоторые из этих соединений проявляют хорошую аффинность по отношению к NMDA-рецепторам, а некоторые, наоборот, - к AMPA-рецепторам.

Тетразолильные аналоги аминокислот исследованы также в качестве лигандов метаботропных глутаматных рецепторов. α-Метил[4-(1H-тетразол-5-ил)фенил]глицин **58** известен как эффективный агонист и антагонист рецепторов mGluRII и mGluRIII [51-53].

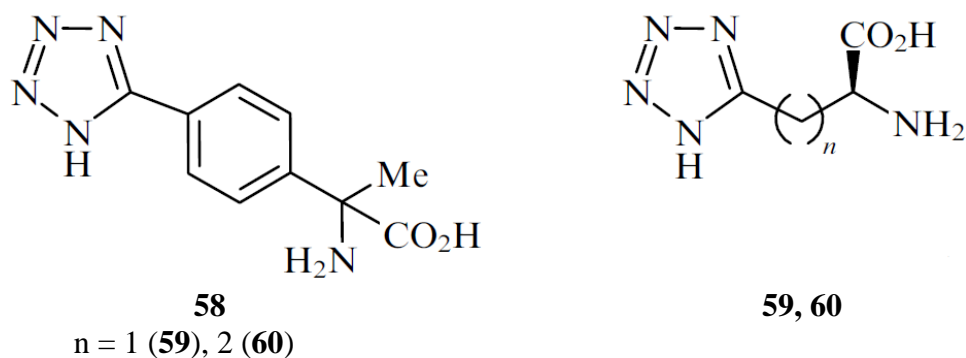


Рисунок 9.

Действие на mGluR-рецепторы исследовали и для тетразолильных аналогов аспаргиновой и глутаминовой кислот – L-2-амино-3-(тетразол-5-ил)пропионовой (**59**) и L-2-амино-4-(тетразол-5-ил)масляной кислот (**60**) [54,55].

Тетразолильные аналоги вигабатрина (4-аминогекс-5-еновой кислоты) (**61**, **62**), который необратимо ингибирует рецепторы γ -аминомасляной кислоты, могут рассматриваться в качестве кандидатов при разработке перспективных противосудорожных средств [38].

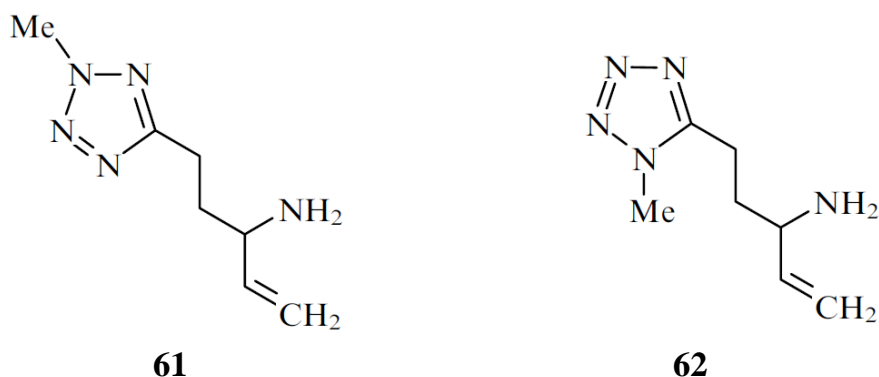
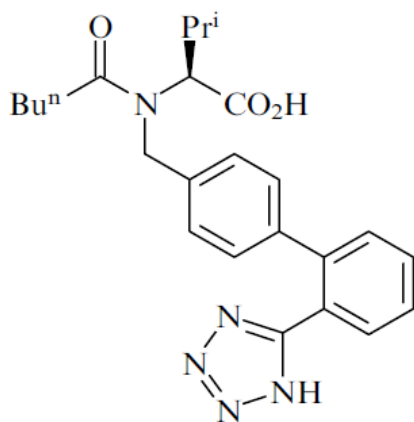


Рисунок 10.

1.3.2 действие на сердечно-сосудистую систему

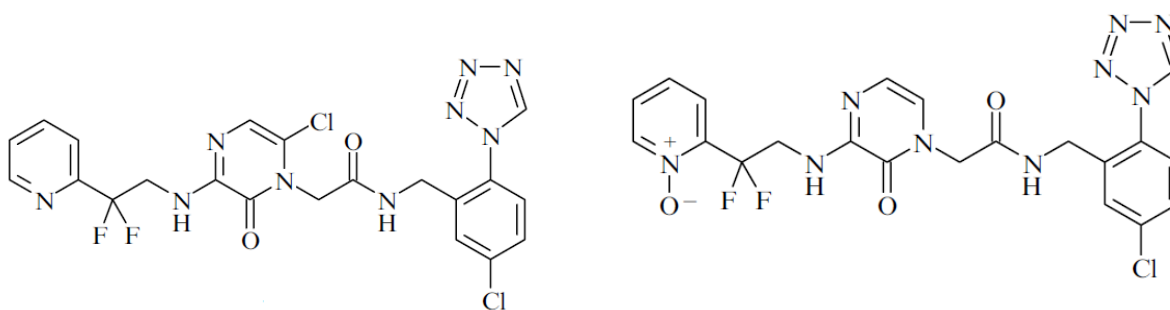
Антигипертензивное лекарственное средство вальсартан считается самым известным аналогом аминокислоты, содержащим тетразолильный фрагмент в боковой цепи **63** [56]. Данное соединение проявляет свойства эффективного антагониста рецепторов пептидного гормона ангиотензина, который образуется под действием ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) и оказывает гипертензивное действие. Вальсартан является производным L-валина, и кроме того, структурным аналогом других препаратов данного типа – лозартана и ирбесартана.



63

Рисунок 11.

Ингибиторы тромбина — это класс антитромботических средств, оказывающих большое влияние на сердечно-сосудистую систему. Они играют ключевую роль в превращении фибриногена в нерастворимый фибрин, тем самым способствуют протеканию жизненно необходимых процессов в организме, в том числе заживлению ран. Во многих случаях в качестве противотромбозных препаратов выступают соответствующие сериновые протеазы. Среди бензиаминов, содержащих тетразолильные фрагменты, удалось выявить соединения-лидеры **64**, **65**, являющиеся эффективными ингибиторами тромбина [57].



64

65

Рисунок 12.

1.3.3 противоопухолевое действие

Тимидилатсинтаза (TS) – один из ферментов, участвующих в синтезе пиримидиновых нуклеотидов в клетке, являющихся известной мишенью для противоопухолевых лекарственных средств. В качестве ингибиторов TS были предложены производные фолиевой кислоты **66**, содержащие тетразол-5-ильный фрагмент.

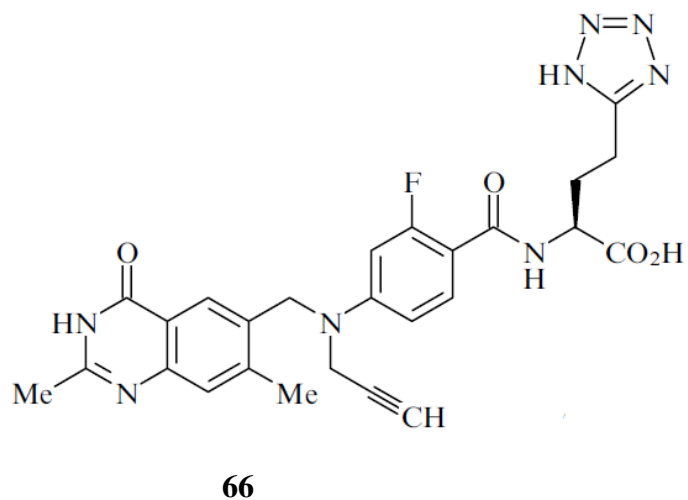


Рисунок 13.

В качестве средств для ингибирования опухолевых процессов, протекающих по другим механизмам, были исследованы производные тетразола [58,59].

1.3.4 действие на бактерии и вирусы

В подавляющем большинстве случаев тетразолильные аналоги и производные аминокислот не проявляют какой-либо значимой антибактериальной активности. Однако существует несколько исключений. Самым известным тетразолом с антибактериальной активностью является цефазолин - полусинтетический цефалоспориновый антибиотик широкого действия **67**, включающий в свою структуру три аминокислоты [5].

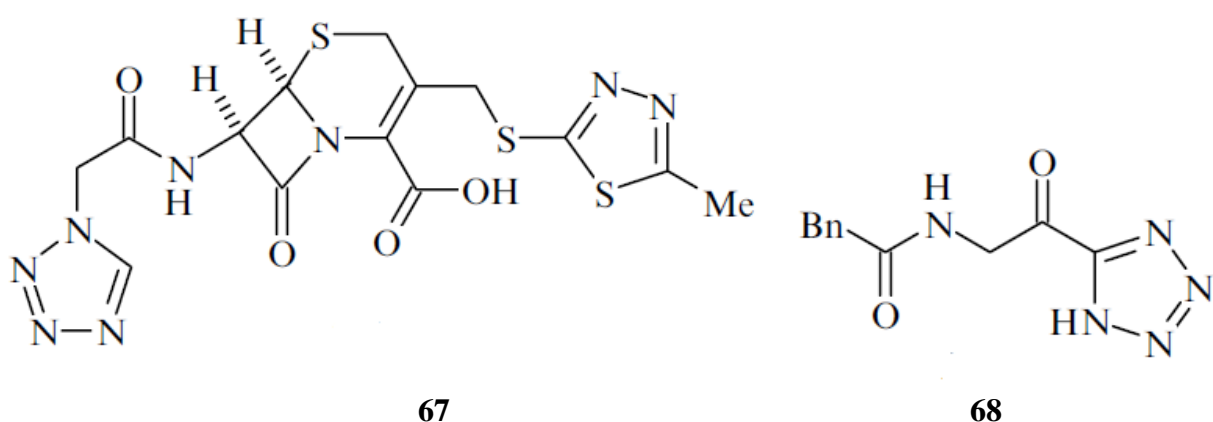


Рисунок 14.

Перспективным направлением исследований в этой области является создание лекарственных средств, действующих на резистентные штаммы. Так, тетразол **68** выступает в качестве достаточно активного ингибитора обнаруженного у ряда бактерий (резистентных по отношению к β -лактамам антибиотикам) сериновой β -лактамазы класса CP99.

Таким образом, анализ литературных данных показал, что модификация природных соединений путем введения в их структуру тетразолильных фрагментов, является перспективным методом при разработке новых лекарственных субстанций.

2 экспериментальная часть

2.1 инструменты и методы

Индивидуальность получаемых соединений доказывали с помощью метода ТСХ: на пластинах Silufol UR-254, Merck Kieselgel 60F₂₅₄ в системе, индивидуально подбираемой для каждого случая, с проявлением пятен в УФ-излучении при 254 нм или в парах йода. Температуры плавления определяли на микростолике РНМК VEB Wagetechnik Rapido. Спектры ЯМР ¹H и ¹³C регистрировали на спектрометре Bruker Avance II 400 (рабочие частоты 400 и 100 МГц соответственно). Масс-спектры зарегистрированы на масс-спектрометре Bruker Micro TOF (ESI). Для вакуумного испарения растворителей использовали роторный испаритель LABOROTA – 4002 – digital WB. Угол вращения конечного продукта измеряли на приборе AA-55 Automatic Polarimeter. Кислотность среды определяли с помощью универсальной индикаторной бумаги pH 0-12 Lachema. Для прогноза вероятных видов активности соединений использовалась компьютерная программа PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) Refined 2014 и Mcule Research Accelerator Program. Для облучения микроволновым излучением использовали систему для химического синтеза «Discover S-Class».

2.2 методика синтеза (2S)-2-амино-5-(1H-тетразол-1-ил)пентановой кислоты

2.2.1 получение медного комплекса L-орнитина

К суспензии 10 г (60 ммоль) гидрохлорида L-орнитина в 75 мл воды добавили 8,4 г (53 ммоль) гидрокарбоната меди, перемешивая при температуре 80 °С, в течение 20 минут. Полученный водный раствор комплекса Cu(II) с L-орнитином использовали для дальнейших реакций.

2.2.2 получение медного комплекса (2S)-2-амино-5-(ди-трет-бутилоксикарбонил)пентановой кислоты

К полученному на первой стадии водному раствору медного комплекса L-орнитина добавили раствор 8,4 г (100 ммоль) гидрокарбоната натрия в 150 мл воды. Далее в течение часа прикапывали раствор 14,22 г (75 ммоль) ди-трет-бутилдикарбоната в 40 мл изопропилового спирта. Реакционную смесь выдерживали при комнатной температуре в течение 16 часов. Образовавшийся осадок отфильтровывали, промыли холодной водой и метанолом, сушили.

Выход: 16,3 г (52,2%), $T_{пл}=240\text{ }^{\circ}\text{C}$. Спектр ЯМР ^1H (DMSO-d_6), δ , м.д.: 1.4с (9H, CH_3), 6.76 с (H, NH). Спектр ЯМР ^{13}C (DMSO-d_6): δ , м.д. 28.78. Масс-спектр: m/z 526.21 $[\text{M} + \text{H}]^+$ $\text{C}_{20}\text{H}_{38}\text{CuN}_4\text{O}_8$. Вычислено: 526.08; 548.19 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, $\text{C}_{20}\text{H}_{38}\text{CuN}_4\text{NaO}_8$. Вычислено: 549.07.

2.2.3 разрушение медного комплекса и получение (2S)-2-(9H-флуорен-9-илметоксикарбонил)-5-ди-трет-бутилоксикарбонил)пентановой кислоты

Комплекс $[\text{Вос-ORn}]_2\text{Cu}$ (34 ммоль), при нагревании растворили в 200 мл воды и добавили 5,7г (34 ммоль) трилона Б. Полного растворения добились добавлением ацетонитрила. К охлажденному раствору добавили 20,2 г (0,2 моль) триэтиламина и раствор 12,5 г (37 ммоль) N-(9-флуоренилметоксикарбонилокси)сукцинимиды в таком количестве ацетонитрила, чтобы соотношение вода/органический растворитель было 1:1. pH раствора поддерживали около 8-9 добавлением ТЭА. Через час выпавший осадок отфильтровали и фильтрат подкислили концентрированной соляной кислотой до pH=4-5. Образовавшееся густое белое масло декантировали, залили водой, оставили на сутки. Полученный белый кристаллический продукт отфильтровали. Очистку продукта проводили перекристаллизацией из смеси изопропиловый спирт – гексан.

Выход: 71%. $T_{пл}$ = 98-100°C. $[\alpha]_D^{20} = -6,5^\circ$ (1 г/100мл; растворитель – метиловый спирт). Спектр ЯМР 1H (CD_3OD), δ , м.д.: 1.37 с (9H, CH_3), 2.84 м (2H, $\gamma-CH_2$), 2.86 м (2H, $\delta-CH_2$), 2.91 м (2H, $\beta-CH_2$), 4.23 т (2H, CH_{2Fmoc}), 4.41 д (1H, CH_{Fmoc}), 7.31 т (2H, $2CH_{Ar}$), 7.35–7.47 м (2H, $2CH_{Ar}$), 7.68 т (2H, CH_{Ar}), 7.80 д (2H, CH_{Ar}). Спектр ЯМР ^{13}C ($DMSO-d_6$), δ , м.д.: 9.78, 26.66, 28.73, 45.64, 47.15, 66.03, 77.83, 120.55, 121.84, 125.74, 127.54, 127.75, 128.08, 129.39, 141.17, 144.45, 156.06, 156.41. Масс-спектр: m/z 455.22 $[M + H]^+$ $C_{25}H_{30}N_2O_6$. Вычислено: 454.5155; 477.20 $[M + Na]^+$, $C_{25}H_{30}N_2NaO_6$. Вычислено: 477.5053.

2.2.4 получение трифторацетата (2S)-2-(9H-флуорен-9-илметоксикарбонил)-5-аминопентановой кислоты

Навеску 3,6 г (7,9 ммоль) (2S)-2-(9H-флуорен-9-илметоксикарбонил)-5-ди-*трет*-бутилоксикарбонил)пентановой кислоты растворили в 10 мл CH_2Cl_2 , охладили в морозильной камере до 0 °С, добавили 20 мл трифторуксусной кислоты. Через час реакционную массу упарили в вакууме. Остаток – белое масло перетирали с диэтиловым эфиром до затвердевания. Выход: 87%.

2.2.5 получение (2S)-2-(9H-флуорен-9-илметоксикарбонил)-5-(1H-тетразол-1-ил)пентановой кислоты

К суспензии 13,4 ммоль азидата натрия в 23,6 ммоль триэтилортоформиата приливали раствор 10,4 ммоль аминокислоты в 10 мл ледяной уксусной кислоты. Реакционную смесь выдерживали при перемешивании в течение 4 часов при 70-85°C. Контроль за ходом реакции проводили методом ТСХ в системе хлороформ/метиловый спирт (9:1). Реакционную массу упаривали в вакууме. Полученное масло светло-желтого цвета перетирали с диэтиловым эфиром до затвердевания. Продукт перекристаллизовывали из смеси этиловый спирт - вода.

Выход 3,49 г (86%). $T_{пл}=165-168\text{ }^{\circ}\text{C}$, $[\alpha]_d^{22,6} = -12,5^{\circ}$ (концентрация – 0,1; растворитель – метиловый спирт). Спектр ЯМР ^1H (CD_3OD), δ , м.д.: 1.7–1.77 м (2H, $\gamma\text{-CH}_2$), 1.90–1.93 м (2H, $\delta\text{-CH}_2$), 2.00–2.05 м (2H, $\beta\text{-CH}_2$), 4.23 т (2H, CH_2Fmoc , J 6.5 Гц), 4.41 д (1H, CH_{Fmoc} , J 6.7 Гц), 4.54 т (1H, CH, J 6.8 Гц), 7.31 т (2H, 2CH_{Ar} , J 7.1 Гц), 7.35–7.47 м (2H, 2CH_{Ar}), 7.68 т (2H, CH_{Ar} , J 7.2 Гц), 7.80 д (2H, CH_{Ar} , J 7.1 Гц), 9.18 с (1H, CH). Спектр ЯМР ^{13}C (CD_3OD), δ , м.д.: 27.34, 29.53, 48.43, 48.73, 49.85, 67.82, 120.91, 126.91, 128.14, 128.76, 142.59, 145.11, 145.33, 158.63. Масс-спектр: m/z 408.1600 $[\text{M} + \text{H}]^+$ $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_5\text{O}_4$ Вычислено: 408.17; 430.1481 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{NaO}_4$. Вычислено: 430.15.

2.2.6 получение (2S)-2-амино-5-(1H-тетразол-1-ил)пентановой кислоты

2,5ммоль (2S)-2-(9H-флуорен-9-илметоксикарбонил)-5-(1H-тетразол-1-ил)пентановой кислоты с 4 мл морфолина перемешивали в течение 30 минут при комнатной температуре. Реакционную смесь выливали в 50 мл воды и отфильтровывали осадок. Фильтрат упаривали в вакууме, осадок перекристаллизовывали из смеси этиловый спирт – вода. Контроль за ходом реакции осуществляли посредством ТСХ в системе 1-BuOH/этилацетат/уксусная кислота/вода, 1:1:1:1).

Выход 96%. $T_{пл}=208-209\text{ }^{\circ}\text{C}$. Спектр ЯМР ^1H (D_2O), δ , м.д.: 1.86–1.98 м (2H, $\beta\text{-CH}_2$), 2.0–2.19 м (2H, $\gamma\text{-CH}_2$), 3.80 т (1H, $\alpha\text{-CH}$), 4.63 т (2H, $\delta\text{-CH}_2$), 9.24 с (1H, $\text{C}_{\text{тетр.Н}}$). Спектр ЯМР ^{13}C (D_2O), δ , м.д.: 24.84, 27.30, 47.83, 54.11, 144.17, 174.04. Масс-спектр: m/z 186.0979 $[\text{M} + \text{H}]^+$ $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_2$. Вычислено: 186.1918; $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 208.08 $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{N}_5\text{NaO}_2$. Вычислено: 208.17.

2.3 методика синтеза диметилового эфира 2-(1H-тетразол-1-ил)пентановой кислоты

Синтез диметилового эфира 2-(1H-тетразол-1-ил)пентановой кислоты проводили в 2 стадии.

2.3.1 получение диметилового эфира 2-аминопентановой кислоты

Навеску 15 г (0,102 ммоль) глутаминовой кислоты добавили в 100 мл метилового спирта. К полученной суспензии прикапывали при охлаждении в ледяной бане 27 г (0,102 ммоль) тионилхлорида при перемешивании в течение 3 часов при комнатной температуре. Полученный прозрачный раствор упарили в вакууме, залили диэтиловым эфиром и оставили на ночь. В результате получили маслоподобное вещество светло-желтого цвета.

2.3.2 получение диметилового эфира 2-(1H-тетразол-1-ил)пентановой кислоты

К суспензии 34,3 ммоль диметилового эфира 2-аминопентадионовой кислоты и 34,3 ммоль азидата натрия в 17 мл ортомуравьиного эфира приливали 15,7 мл ледяной уксусной кислоты. Реакционную смесь перемешивали при 50 °С в течении четырех часов. Контроль за ходом реакции проводили по ТСХ в системе хлороформ/метиловый спирт (9:1). После выдержки добавили к реакционной смеси 100 мл водного раствора бикарбоната натрия. Продукт экстрагировали хлороформом, сушили экстракт над CaCl_2 и упаривали в вакууме. Очистку проводили методом колоночной хроматографии в системе хлороформ-метанол (90:10). Полученный продукт – маслоподобное вещество светло-жёлтого цвета.

Выход: 58,8%, $[\alpha]_D^{22,6} = +13,5^\circ$ (1 г/100мл, растворитель - диметилформамид). Спектр ЯМР¹H (CDCl_3), δ , м.д.: 2.34 м (2H, $\gamma\text{-CH}_2$), 2.64 м (2H, $\beta\text{-CH}_2$), 3.63 с (3H, CH_3), 3.78 с (3H, CH_3), 5.60 т (1H, CH), 7.68 т (2H, CH_{Ar}), 9.88 с (1H, $\text{C}_{\text{тетр.Н}}$). Спектр ЯМР ¹³C (CDCl_3), δ , м.д.: 27.51, 29.34, 52.11, 53.65, 60.11, 142.96, 167.89, 172.05. Масс-спектр: m/z 229.09 $[\text{M} + \text{H}]^+ \text{C}_8\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_4$. Вычислено: 229.128 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; 251.08 $\text{C}_8\text{H}_{12}\text{N}_4\text{NaO}_4$. Вычислено: 251.41.

2.4 методика синтеза 3-(4-гидроксифенил)-2-(1Н-тетразол-1-ил)пропановой кислоты

К суспензии 27,6 ммоль 2-амино-3-(4-гидроксифенил)пропановой кислоты и 35,9 ммоль азидата натрия в 10,5 мл триэтилортоформиата приливали 25 мл ледяной уксусной кислоты. Реакционную смесь перемешивали при 80°C в течении 5 часов, отгоняли под вакуумом. Продукт очищали колоночной хроматографией в системе BuOH-1/аммиак (водный раствор, 3%).

Выход: 63,3%. Спектр ЯМР ^1H (DMSO- d_6), δ , м.д.: 3.23-3.48 м (2H, β -CH $_2$), 5.30 т (1H, CH), 6.55-7.39 м (4H, 4CH $_{\text{Ar}}$), 9.28 с (1H, C $_{\text{тетр.Н}}$). Спектр ЯМР ^{13}C (DMSO- d_6): δ , м.д.: 65.69, 115.57, 127.71, 130.02, 144.18, 156.45, 169.71.

3 обсуждение результатов

3.1 выбор модельных соединений

В качестве модельного соединения для получения тетразолильного аналога, содержащего гетероциклический фрагмент в боковой цепи, был выбран L-орнитин **69**. Для синтеза тетразолильных аналогов природных аминокислот, содержащих гетероциклический фрагмент вместо α -аминогруппы в качестве модельных соединений, были выбраны L-глутаминовая кислота **70** и L-тирозин **71**.

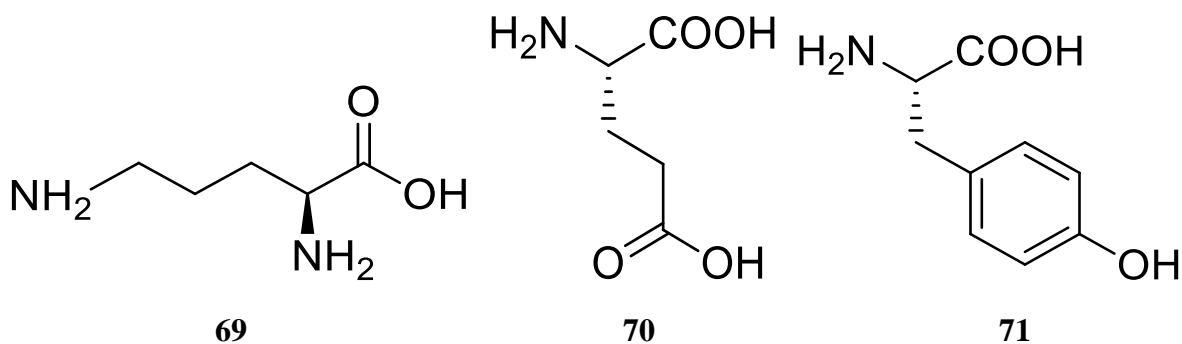


Рисунок 15.

3.2 прогнозирование биологической активности

Биологическая активность химических соединений является одним из важнейших свойств, которое позволяет их рассматривать как объекты медицинской химии и использовать их в качестве веществ-кандидатов активных фармацевтических ингредиентов. Эмпирический путь исследования биологической активности у химических соединений малоэффективен. Компьютерные методы дизайна лекарств позволяют во многих случаях ограничить пространство исследования сравнительно небольшим числом мишеней (видов биологической активности) [60].

В настоящей работе для прогноза вероятных видов активности использовалась программа PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) Refined 2014. PASS - компьютерная программа, позволяющая выполнять прогноз спектров биологической активности химических соединений на основе анализа взаимосвязей «структура–активность» в обучающей выборке [61], биологическая активность описана на качественном уровне (наличие/отсутствие). В PASS генерируется база данных, содержащая информацию о взаимосвязях между структурой химических соединений и их действием на белки-мишени (Structure-Activity Relationships Base - SAR base), которая в дальнейшем используется для прогноза. Результаты прогноза PASS для каждой анализируемой молекулы содержат списки мишеней с оценками вероятности наличия взаимодействия - P_a и вероятности отсутствия взаимодействия - P_i .

Согласно полученным в программе PASS расчетным данным, модельные соединения **69-71** могут рассматриваться как вещества, проявляющие различные виды биологической активности. Однако в рамках данной работы был сделан акцент на активности, связанной с действием на центральную нервную систему, в том числе ноотропную. Результаты прогноза такой активности в PASS для моделей **69-71** представленные в таблице 3, свидетельствуют о том, что данные соединения могут представлять интерес как вещества с ноотропным действием, а также в качестве ингибиторов ГАМК-аминотрансферазы.

Таблица 3. Прогноз биологической активности для соединений 69-71.

Название соединения	Название белка-мишени	P_a	P_i	Активность
(2S)-2-амино-5-(1H-тетразол-1-ил)пентановая кислота (69)	Nootropic	0,735	0,031	Ноотропы (нейрометаболические стимуляторы)
диметиловый эфир 2-(1H-тетразол-1-ил)пентановой кислоты (70)	GABA aminotransferase inhibitor	0,536	0,016	Ингибирует рецепторы γ -аминомасляной кислоты, могут рассматриваться в качестве кандидатов при разработке противосудорожных средств.
	Nootropic	0,652	0,055	Ноотропы (нейрометаболические стимуляторы) - лекарственные средства, предназначенные для оказания специфического воздействия на высшие функции мозга.
3-(4-гидроксифенил)-2-(1H-тетразол-1-ил)пропановая кислота (71)	GABA aminotransferase inhibitor	0,514	0,019	Ингибирует рецепторы γ -аминомасляной кислоты
	Neurotransmitter antagonist	0,462	0,057	Антагонист нейротрансмиттеров

На следующем этапе мы провели виртуальный скрининг на основе молекулярного докинга — метода молекулярного моделирования, позволяющего позиционировать низкомолекулярное вещество (лиганд) в активном центре фермента (белка-мишени) и оценивать свободную энергию связывания белка-мишени с этим лигандом. Чем меньше значение этой энергии, тем прочнее лиганд связывается в активном центре белка-мишени, а значит, потенциально сильнее воздействует на фермент [62].

В настоящей работе, учитывая расчетные данные, полученные в программе PASS, в качестве белка-мишени была выбрана ГАМК-аминотрансфераза. Как видно из Рис. 16 лиганд – тетразолильный аналог L-тирозина расположен в активном центре фермента. Аналогичная ситуация наблюдается и для других тетразолильных аналогов L-орнитина и L-глутаминовой кислоты.

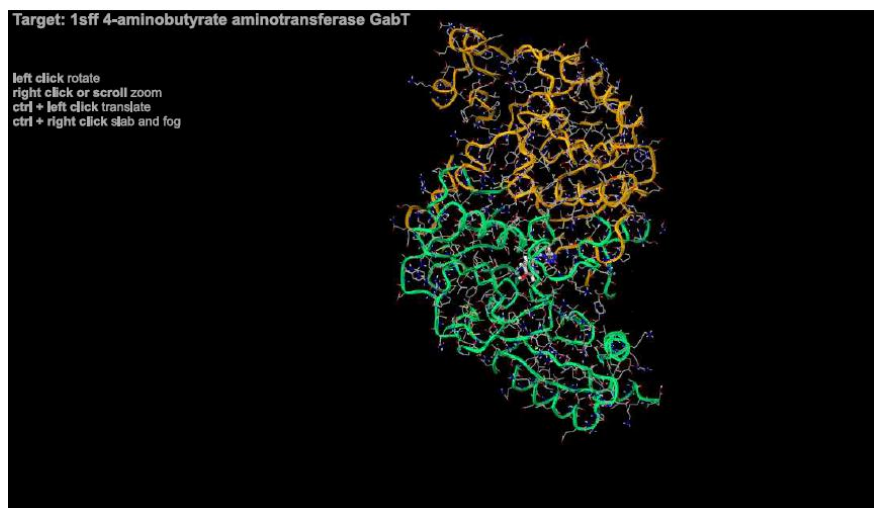


Рисунок 16.

Значения свободной энергии связывания белка-мишени с лигандами **69-71** представлены в таблице 4. Согласно полученным данным наибольшее связывание с белком-мишенью наблюдается для тетразолильного аналога L-тирозина. Кроме того, свободная энергия связывания с ГАМК-аминотрансферазой была рассчитана для вигабатрина – эффективного лекарственного средства для лечения эпилепсии. Известно, что вигабатрин необратимо ингибирует трансаминазу ГАМК и увеличивает ее содержание в головном мозге [5].

Таблица 4. Значения свободной энергии связывания белка-мишени с лигандами.

Соединение	Оценочная функция, ккал/моль
диметиловый эфир 2-(1Н-тетразол-1-ил)пентановой кислоты	-7,0
(2S)-2-амино-5-(1Н-тетразол-1-ил)пентановая кислота	-6,4
3-(4-гидроксифенил)-2-(1Н-тетразол-1-ил)пропановая кислота	-8,5
вигабатрин	-4,4

Как видно из таблицы 4, все модельные соединения – тетразолильные аналоги природных аминокислот обладают большим связыванием с белком-мишенью, чем вигабатрин, и, следовательно, могут рассматриваться как потенциальные ингибиторы ГАМК-аминотрансферазы.

3.3 выбор методики синтеза тетразолильных аналогов природных аминокислот

Изучив литературные данные, для синтеза модельных соединений - 1-замещенных тетразолов, мы выбрали реакцию гетероциклизации с участием амина, азид натрия и ортомуравьиного эфира в уксусной кислоте. Как было показано ранее, данные реакции с участием первичных аминов проходят с высоким выходом конечного продукта, как правило, > 80% (Схема 22) [63-65].

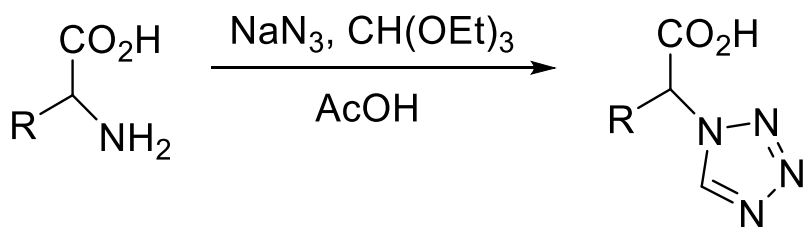


Схема 22.

В указанную реакцию легко вступают амины алифатического, ароматического и гетероциклического рядов [63]. Этот метод можно считать удобным и безопасным путем синтеза различных 1-замещенных тетразолов [63,65], в том числе и тетразолильных аналогов аминокислот. Так, в работе [66] данным методом был получен тетразолильный аналог L-лизина с достаточно высоким выходом.

3.4 выбор защитных групп

Защитные группы играют ключевую роль в синтезе сложных природных соединений. Они не только делают инертной ту или иную функцию, но и обеспечивают стереоселективность реакций и существенно облегчают стадии выделения и очистки [67].

Чтобы ввести тетразолильный фрагмент селективно в δ -положение, для защиты α -аминофункции аминокислоты нами была выбрана Fmoc-защитная группа (Fmoc – 9H-флуорен-9-илметоксикарбонильная группа). Эта группа широко используется в твердофазном синтезе пептидов, и ее преимущество состоит в том, что она устойчива в условиях планируемых преобразований (гетероциклизация и кислый гидролиз).

Вводить Fmoc-группу в структуру аминокислоты можно двумя способами: с использованием соответствующего хлорангидрида – FmocCl [68] или N-оксисукцинимидного эфира FmocOSu (Рис.16). В первом случае реакция сопровождается получением большого количества побочных продуктов (до 20%). Поэтому чаще всего используют второй способ введения защитной группы [69].

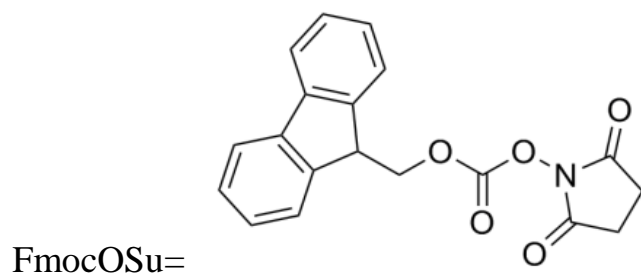


Рисунок 16.

Для селективного введения Fmoc-защитной группы в α -положение, необходимо было предварительно ввести защитную группу в δ -положение. Для защиты δ -аминогруппы было принято решение использовать Boc-защитную группу (Boc – бензилоксикарбонильная группа). Она устойчива в условиях, обычных для удаления других защитных групп, например, при гидрогенолизе, обработке натрием в жидком аммиаке, щелочном омылении. Введение в структуру можно осуществлять действием Boc_2O (Boc_2O – ди-*трет*-бутилпирокарбонат, Рис.17). Кроме того, Boc-защитная группа является кислотно-лабильной и легко может быть удалена добавлением трифторуксусной кислоты.

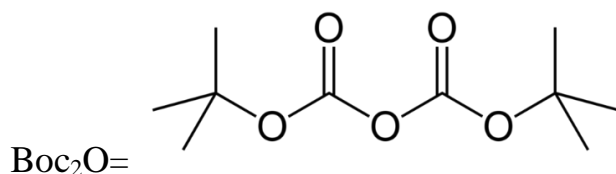


Рисунок 17.

3.5 получение (2S)-2-амино-5-(1H-тетразол-1-ил)пентановой кислоты

Синтез целевого продукта является совокупностью нескольких стадий.

3.5.1 образование медного комплекса L-орнитина

Для того, чтобы селективно провести гетероциклизацию по дельта-аминогруппе, нам необходимо было ввести защитную группу на аминогруппу в альфа-положении. Для этого мы применили известную методику. Вначале был получен хелатный медный комплекс орнитина. К суспензии гидрохлорида L-орнитина в воде добавляли гидроксокарбонат меди (Схема 23). В результате проведения реакции получили хелатный медный комплекс орнитина **72**.

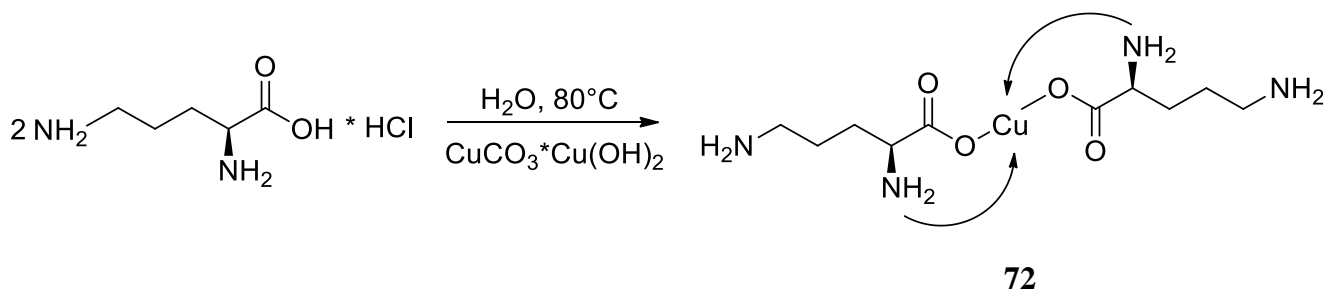


Схема 23.

3.5.2 получение медного комплекса (2S)-2-амино-5-(*трет*-бутилоксикарбонил)пентановой кислоты

На второй стадии с помощью ди-*трет*-бутил-пирокарбоната была введена защитная группа на дельта-аминогруппу. Для этого к полученному медному комплексу орнитина **72** в водном растворе гидрокарбоната натрия в течение часа прикапывали раствор ди-*трет*-бутилдикарбонат в изопропиловом спирте. Таким образом происходила защита свободной амино-группы по схеме 24. Физико-химические характеристики полученного медного комплекса (2S)-2-амино-5-(*трет*-бутилоксикарбонил)пентановой кислоты **73** соответствуют литературным данным.

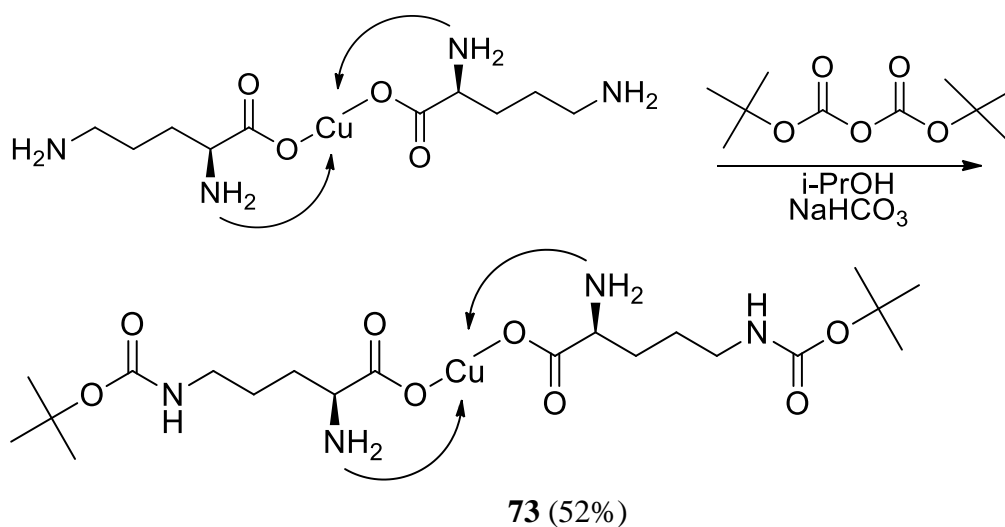


Схема 24.

В спектре ПМР соединения **73** (Приложение А, Рис. А.1) наблюдается интенсивный синглет, отвечающий химическому сдвигу атомов 9Н метильных групп δ 1.40 м.д. А также слабый сигнал δ 6.67 м.д. протонов аминогруппы.

В спектре ЯМР ^{13}C (Приложение Б, Рис. Б.1) присутствует сигнал, соответствующий углероду метильных групп при δ 28.78 м.д.

В масс-спектре полученного соединения **73** (Приложение В, Рис. В.1) пику молекулярного иона $[\text{M} + \text{H}]^+$ соответствует масса 526.21, что соответствует вычисленной ($\text{C}_{20}\text{H}_{38}\text{CuN}_4\text{O}_8$, вычислено: 526.08). Также наблюдается интенсивный сигнал, соответствующий иону m/z , 548.19 $[\text{M} + \text{Na}]^+(\text{C}_{20}\text{H}_{38}\text{CuN}_4\text{NaO}_8$, вычислено: 549.07).

3.5.3 разрушение медного комплекса и получение (2S)-2-(9Н-флуорен-9-илметоксикарбонил)-5-ди-трет-бутилоксикарбонил) пентановой кислоты

На данной стадии необходимо было получить свободную α -аминогруппу. Для этого медный комплекс **73** разрушали трилоном Б. Затем вводили защитную Fmoc-группу в α -положение действием 9-флуоренилсукцинимид карбоната (FmocOSu) в смеси ацетонитрил – вода (Схема 25). При этом рН раствора поддерживался около 8-9 добавлением ТЭА для обеспечения селективности постановки защиты.

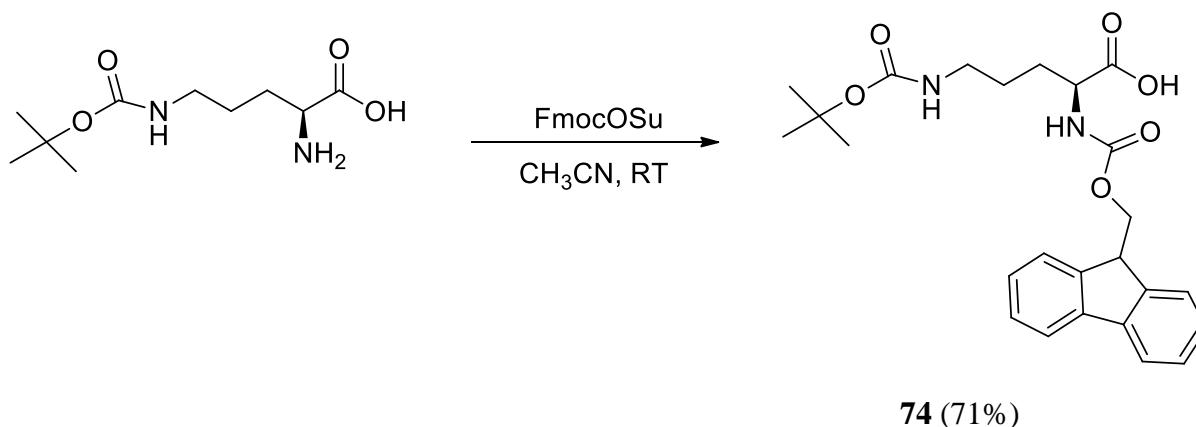


Схема 25.

Продукт **74** очищали перекристаллизацией из смеси изопропиловый спирт-гексан.

На спектре ^1H ЯМР соединения **74** (Приложение А, Рис. А.2) ожидаемо проявляются сигналы в области δ 7.31-7.90 м.д., характерные для ароматической структуры 9Н-флуорен-9-илметоксикарбонильной группы в отличие от спектра соединения **73**. Кроме того, присутствие Fmoc-защитной группы подтверждает мультиплет в области δ 4.22-4.28 м.д., отвечающей химическому сдвигу метиленовых и метинового протонов.

На спектре ^{13}C ЯМР (Приложение Б, Рис. Б.2) можно наблюдать сигналы, соответствующие химическим сдвигам атомов углерода 9Н-флуорен-9-илметоксикарбонильной группы как ароматической структуры δ 120.55-129.39 м.д., так и карбонильного атома углерода δ 156.06-156.41 м.д.

На масс-спектре соединения **74** (Приложение В, Рис. В.2) присутствует сигнал, соответствующий молекулярному иону m/z 455.22 $[\text{M} + \text{H}]^+$ ($\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_6$, вычислено: 454.5155) и интенсивный сигнал, соответствующий иону m/z , 477.20 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ($\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{NaO}_6$, вычислено: 477.5053).

3.5.4 *получение (2S)-2-(9Н-флуорен-9-илметоксикарбонил)-5-амино)пентановой кислоты*

На данной стадии проводили удалений Fmoc-защитной группы с δ -амино-группы действием трифторуксусной кислоты в хлористом метиле (Схема 26).

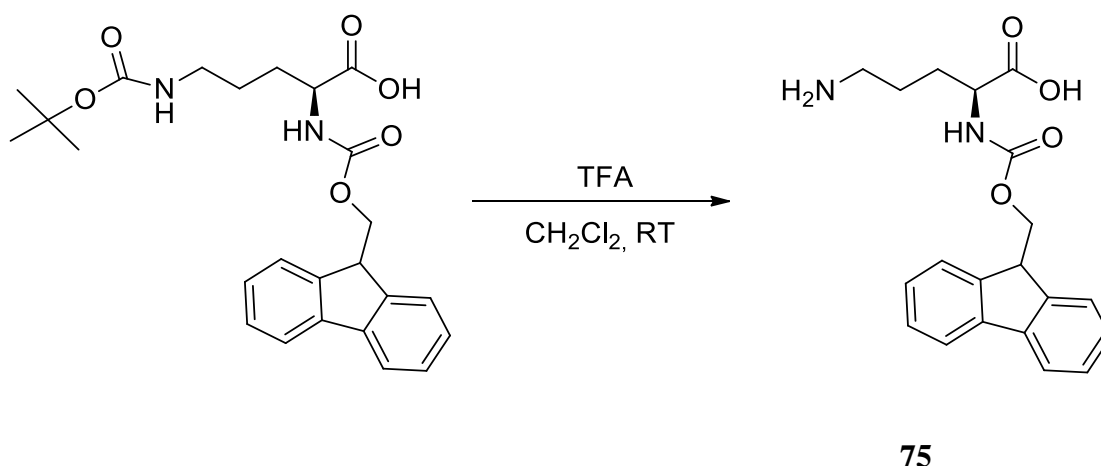


Схема 26.

3.5.5 получение (2S)-2-(9H-флуорен-9-илметоксикарбонил)-5-(1H-тетразол-1-ил)пентановой кислоты

На данной стадии проводили гетероциклизацию действием NaN_3 , триэтилортоформиата на Fmoc-защищенный L-орнитин **75** в ледяной уксусной кислоте (Схема 27). В результате был получен защищенный по альфа-аминогруппе аналог L-орнитина, содержащего в гамма-положении тетразол-1-ильный фрагмент. Полученное новое соединение **76** было очищено перекристаллизацией из водного этанола и охарактеризовано методами ^1H и ^{13}C ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии. Также был определен угол вращения плоскополяризованного света $[\alpha]_D^{22,2} = -12,5^\circ$ (1 г/100мл, растворитель – MeOH).

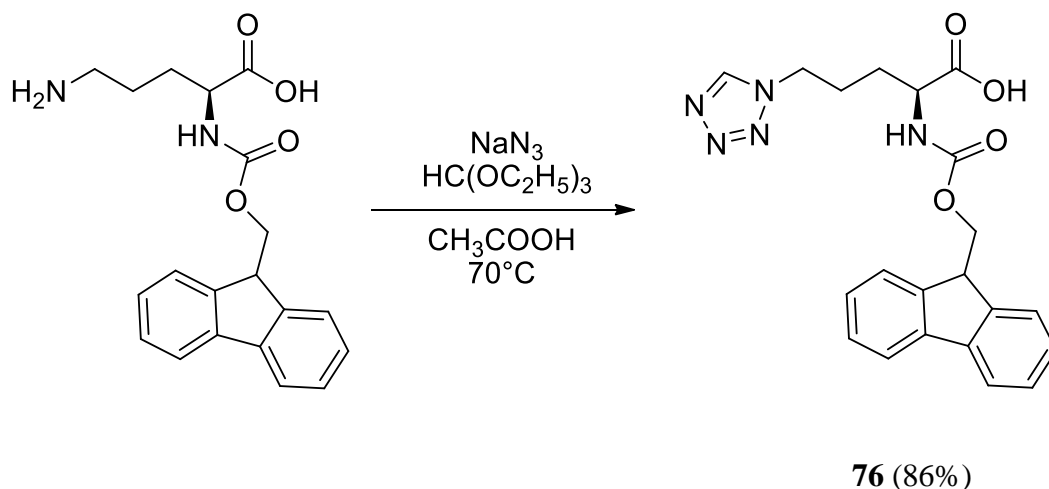


Схема 27.

В спектрах ^1H и ^{13}C ЯМР-спектроскопии соединения **76** (Приложение А, Рис. А.3) наблюдаются все характеристичные сигналы, подтверждающие структуру полученного продукта. Так, в спектре ЯМР ^1H присутствуют сигналы протонов метиленовых групп в α -, β -, γ - и δ -положениях при δ 4.54, 2.00-2.05, 1.7-1.77, 1.90-1.93 м.д. соответственно. Наличие Fmoc-защитной группы подтверждается присутствием сигналов ароматического кольца δ 7.31-7.80 м.д., а также сигналов метиленовой и метиновой групп δ 4.41, 4.23 м.д. Пик при δ 9.19 м.д. подтверждает присутствие гетероциклического фрагмента.

В спектре ЯМР ^{13}C (Приложение Б, Рис. Б.3) в сильнополюсной области имеются сигналы метиленовых групп в α -, β -, γ - и δ -положениях при δ 49.85, 29.53, 27.34, 48.73 м.д. соответственно; в слабополюсной области присутствуют сигналы атомов углерода ароматического кольца при δ 120.91-128.76 м.д., а также сигналы углеродов карбонильных групп при δ 145.33 (Fmoc-группы) и 158.63 м.д. Сигнал гетероциклического фрагмента δ 142.59 м.д. свидетельствует о том, что в полученном соединении **76** имеется тетразолильный фрагмент.

В масс-спектрах (Приложение В, Рис. В.3) присутствует как сигнал молекулярного иона m/z 408.1600 $[\text{M} + \text{H}]^+$, так и характерный сигнал 430.1481 $[\text{M} + \text{Na}]^+$. Полученные значения молекулярных масс соответствуют рассчитанным данным.

Полученный Fmoc-защищенный тетразолильный аналог L-орнитина **76** в дальнейшем может быть использован в твердофазном пептидном синтезе по Fmoc-стратегии.

3.5.6 получение (2S)-2-амино-5-(1H-тетразол-1-ил)пентановой кислоты

На данной стадии защитная 9-флуоренилметоксикарбонильная группа удалена действием морфолина (Схема 28). Продукт очищали перекристаллизацией из смеси этиловый спирт – вода. Полученный тетразолильный аналог L-орнитина также был охарактеризован методами ^1H и ^{13}C ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии.

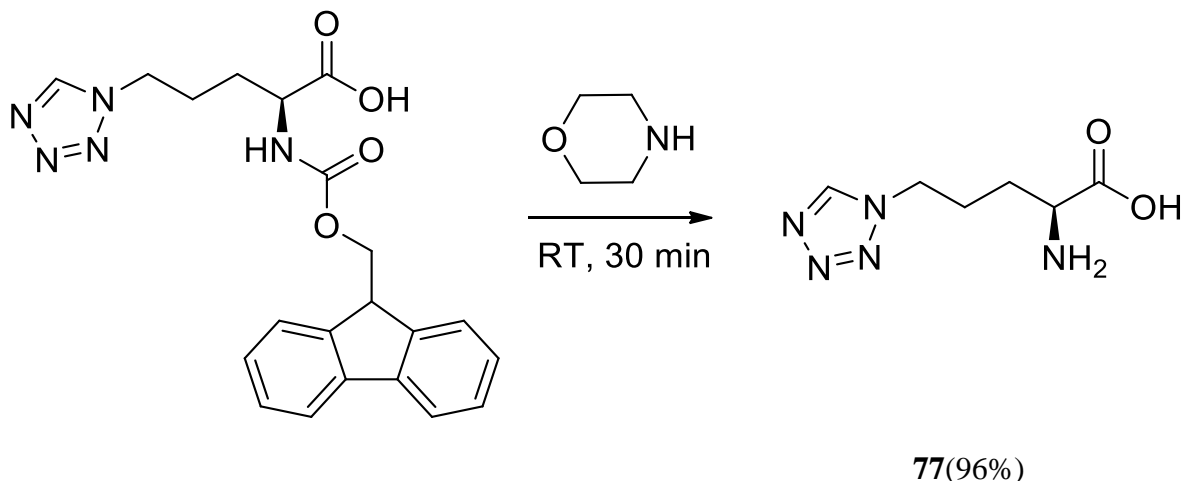


Схема 28.

Так, в спектре ЯМР ^1H (Приложение А, Рис. А.4) сигнал при δ 9.18 м.д. соответствует протону у атома углерода гетероцикла. Химические сдвиги протонов α -, γ -, β -, δ -метиленовых групп соответственно δ 3.80, 2.0-2.19, 1.86-1.98, 4.63 м.д. Отсутствие сигналов в области ароматических структур, характерных для Fmoc-группы, свидетельствует о том, что в полученном соединении из α -положения был удален защитный фрагмент.

В спектре ЯМР ^{13}C (Приложение Б, Рис. Б.4) соединения **77** присутствует характерный сигнал атома углерода 5H-тетразолил-1-ильного фрагмента при δ 143 м.д., а также сигналы атомов углерода метиленовых групп в α -, γ -, β -, δ -положениях с химическими сдвигами 54.11, 27.3, 24.8, 47.8 м.д. соответственно.

На масс-спектре (Приложение В, Рис. В.4) присутствует сигнал, отвечающий молекулярному иону m/z 186.0979 $[\text{M} + \text{H}]^+$ $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_2$ (вычислено: 186.1918). Также обнаружен характерный сигнал, соответствующий $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 208.08 $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{N}_5\text{NaO}_2$ (вычислено: 208.17). Полученные значения молекулярных масс соответствуют вычисленным.

3.6 получение диметилового эфира 2-(1Н-тетразол-1-ил)пентановой кислоты

Синтез диметилового эфира 2-(1Н-тетразол-1-ил)пентановой кислоты проводили в 2 стадии.

3.6.1 получение диметилового эфира 2-аминопентановой кислоты

Вначале синтезировали диметиловый эфир глутаминовой кислоты для снижения полярности продукта и, как следствие, облегчения последующего выделения из полярного растворителя и очистки. Для этого провели реакцию взаимодействия глутаминовой кислоты с метиловым спиртом в присутствии тионилхлорида при комнатной температуре по схеме 29.

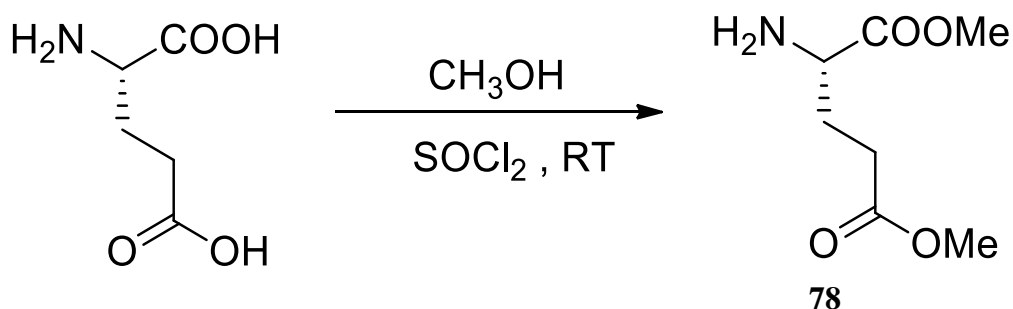


Схема 29.

3.6.2 получение диметилового эфира 2-(1Н-тетразол-1-ил)пентановой кислоты

На этом этапе проводили реакцию гетероциклизации диметилового эфира по α-аминогруппе путем взаимодействия соединения **78**, с азидом натрия в присутствии триэтилортоформиата в ледяной уксусной кислоте по схеме 30. Полученное тетразолильное производное диметилового эфира глутаминовой кислоты является не описанным до настоящего времени соединением и представляет собой маслоподобное вещество светло-жёлтого цвета. Полученное соединение охарактеризовано методами ¹H

и ^{13}C ЯМР и масс-спектрометрии. Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C однозначно подтверждают структуру полученного соединения. На спектре ПМР соединения **79** (Приложение А, Рис. А.5) присутствует сигнал, соответствующий химическому сдвигу протона гетероцикла δ 8.88 м.д., также химические сдвиги метиленовых α -, β -, γ -групп при δ 5.60, 2.64, 2.34 м.д., метильных групп δ 3.63, 3.78 м.д.

На спектре ^{13}C ЯМР соединения есть сигнал, соответствующий химическому сдвигу атома углерода тетразольного цикла δ 142.96 м.д. и все необходимые сигналы, характерные для полученного соединения (Приложение Б, Рис. Б.5). Это химические сдвиги атомов α -, β -, γ -углерода δ 60.11, 27.51, 29.34 м.д., метильных групп δ 52.11, 53.65 м.д., а также сигналы карбонильных атомов углерода при δ 167.89, 172.89 м.д.

На масс-спектрах соединения **79** (Приложение В, Рис. В.4) присутствует как сигнал молекулярного иона m/z 229.09 $[\text{M} + \text{H}]^+$ $\text{C}_8\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_4$, так и характерный сигнал 251.08 $\text{C}_8\text{H}_{12}\text{N}_4\text{NaO}_4$. Полученные значения молекулярных масс соответствуют рассчитанным данным.

Кроме того, был измерен угол вращения плоскополяризованного света, который составил $[\alpha]_d^{22,2} = +13,8^\circ$ (1 г/100мл, растворитель – диметилформамид).

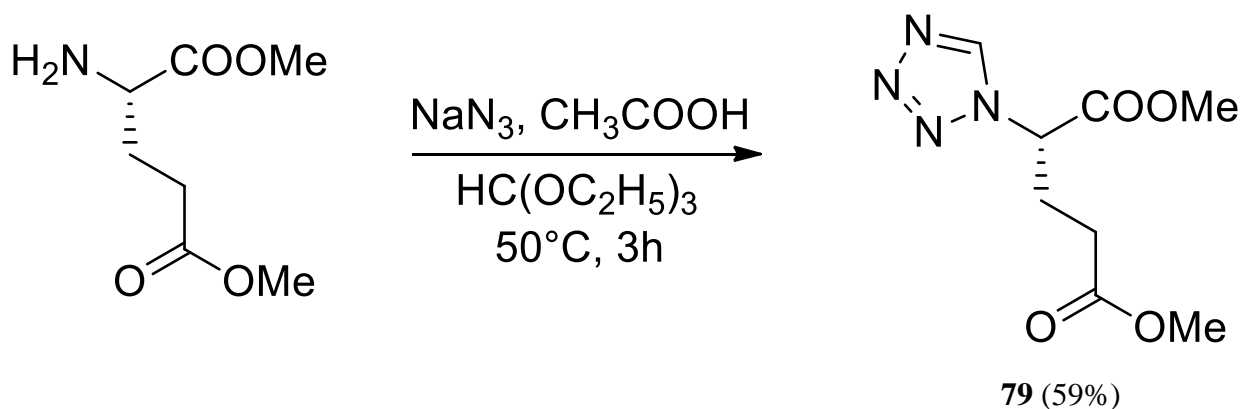


Схема 30.

Как было показано ранее, для синтеза тетразолов может быть применено микроволновое излучение, которое позволяет сократить время реакции, не уменьшая

выхода продукта [70]. В связи с этим было принято решение использовать микроволновое излучения для синтеза диметилового эфира 2-(1Н-тетразол-1-ил)пентановой кислоты .

Для этого провели процесс в микроволновой печи, соблюдая те же пропорции реагентов, что и в синтезе без MW. Облучение происходило в течение 1 часа (Схема 31).

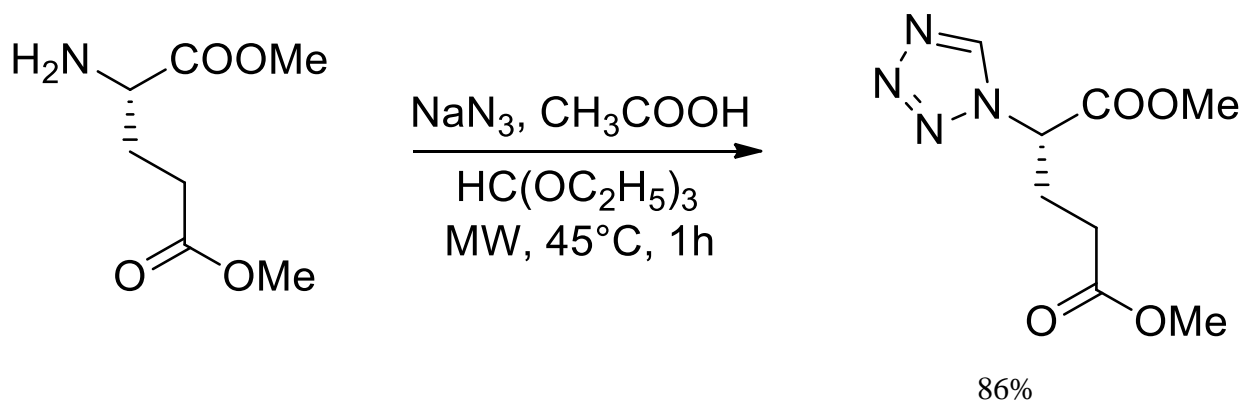


Схема 31.

Выход продукта в данном случае составил 86%, что явно свидетельствует о том, что микроволновое облучение для данного синтеза значительно увеличивает выход целевого продукта. Таким образом, установлено, что активация микроволновым излучением способствует снижению реакционного времени и увеличению выхода диметилового эфира 2-(1Н-тетразол-1-ил)пентановой кислоты.

3.7 получение 3-(4-гидроксифенил)-2-(1Н-тетразол-1-ил)пропановой кислоты

Аналогичным образом была проведена реакция с L-тирозином. Аминокислоту подвергали реакции гетероциклизации путем взаимодействия с азидом натрия в присутствии ортомуравьиного эфира в ледяной уксусной кислоте (Схема 32). Продукт очищали колоночной хроматографией в системе BuOH-1/аммиак (водный раствор, 3%).

Было выявлено, что данная реакция эффективно протекает при более высокой температуре и имеет выход продукта 63%.

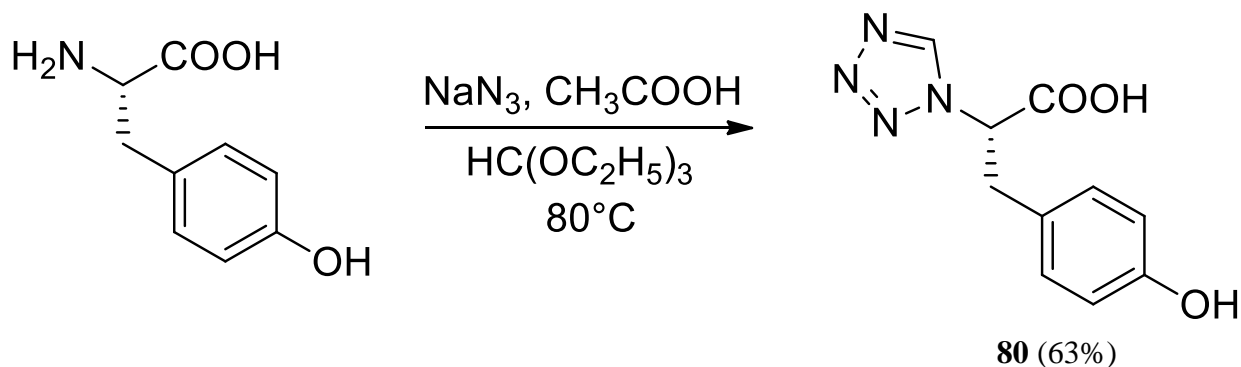


Схема 32.

Полученное соединение охарактеризовано методами ^1H и ^{13}C ЯМР-спектроскопии. В спектре ЯМР ^1H (Приложение А, Рис. А.6) сигнал при δ 9.28 м.д. соответствует протону у атома углерода гетероцикла, а также сигналы атомов водорода в ароматическом кольце δ 6.55-7.39 м.д.

В спектре ЯМР ^{13}C (Приложение Б, Рис. Б.6) соединения **80** присутствует характерный сигнал атома углерода 5Н-тетразолил-1-ильного фрагмента при δ 144.18 м.д.

ВЫВОДЫ

1. Синтезированы и охарактеризованы тетразолильные аналоги природных аминокислот, содержащих гетероциклический фрагмент в α -положении и в боковой цепи. Синтез таких тетразолильных аналогов проведен при взаимодействии природных аминокислот с азидом натрия и триэтилортоформиатом в ледяной уксусной кислоте.
2. Получены и охарактеризованы новые тетразолильные аналоги L-орнитина, содержащие гетероциклический фрагмент в боковой цепи:
 - (2S)-2-(9H-флуорен-9-илметоксикарбонил)-5-(1H-тетразол-1-ил)пентановая кислота;
 - (2S)-2-амино-5-(1H-тетразол-1-ил)пентановая кислота.
3. Получены и охарактеризованы новые тетразолильные аналоги глутаминовой кислоты и тирозина, содержащие гетероциклический фрагмент в α -положении:
 - диметиловый эфир 2-(1H-тетразол-1-ил)пентановой кислоты;
 - 3-(4-гидроксифенил)-2-(1H-тетразол-1-ил)пропановая кислота.
4. Определено, что микроволновое излучение способствует снижению реакционного времени и увеличению выхода аналогов природных аминокислот, содержащих тетразолильный фрагмент в α -положении.

список литературы

1. Zieglgänsberger W., Parsons C.G., Danysz W. Anxiety and Anxiolytic Drugs, 169, 2005. P.249-303.
2. Сидоров А. В. Физиология межклеточной коммуникации. Минск: БГУ, 2008. С.215.
3. Lauria A., Delisi R, Mingoia F., Terenzi A., Martorana A., Barone G., Almerico A.M. Eur. J. Org. Chem., 2014. P.3289.
4. Попова Е.А., Трифонов Р.Е. Успехи химии, 84, 2015. С.891.
5. Ostrovskii V.A., Trifonov R.E., and Popova E.A. Russ Chem. Bull., Int. Ed., 61, 2012. P.768.
6. Ostrovskii V.A., Koldobskii G.I., Trifonov R.E. In Comprehensive Heterocyclic Chemistry III, 6, 2008. P.257.
7. Trifonov R.E., Ostrovskii V.A. Russ. J. Org. Chem., 42, 2006. P.1585.
8. Трифонов Р.Е., Островский В.А. Журнал Органической химии, 42 (11), 2006.С.1599.
9. Войтехович С.В., Гапоник П.Н., Григорьев Ю.В., Ивашкевич О.А. В кн. Химические проблемы создания новых материалов и технологий. (Сборник статей). Вып. 3. НИИФХББГУ, Минск, 2008. С.117.
10. McIlwain H. J. Chem. Soc., 1941. P.75.
11. Roh J., Vávrovâ K., Hrabâlek A. Eur. J. Org. Chem., 2012. P.6101.
12. Trifonov R.E., Alkorta I., Ostrovskii V.A., Elguero J. J. Mol. Struct. (THEOCHEM), 668, 2004. P.123.
13. Ballatore C., Huryn D.M., Smith A.B. Chem. Med. +Chem., 8, 2013. P.385.
14. Yuan H., Silverman R.B. Bioorg. Med. Chem., 17, 2007. P.1651.
15. Herr R.J. Bioorg. Med. Chem., 10, 2002. P.3379.

16. Allen F.H., Groom C.R., Liebeschuetz J.W., Bardwell D.A., Olsson T.S.G., Wood P.A. J. Chem. Inf. Model., 52, 2012. P.857.
17. Matta C.F., Arabi A.A., Weaver D.F. Eur. J. Med. Chem., 45, 2010. P.1868.
18. Matta C.F., Arabi A.A. Future Med. Chem., 3, 2011. P.969.
19. Malik M.A., Wani M.Y., Al-Thabaiti S.A., Shiekh R.A. J. Inclusion Phenom. Macrocycl. Chem., 78, 2014. P.15.
20. Yan S., Larson G., Wu J.Z., Appleby T., Ding Y., Hamatake R., Hong Z., Yao N. Bioorg. Med. Chem. Lett., 17, 2007. P.63.
21. Demko Z.P., Sharpless K.B. J. Org. Chem., 66, 2001. P.7945.
22. Demko Z.P., Sharpless K.B. Angew. Chem., Int. Ed., 41, 2002. P.2113.
23. Demko Z.P., Sharpless K.B. Org. Lett., 4, 2002. P.2525.
24. McManus J.M., Herbst R.M. J. Org. Chem., 24, 1959. P.1643.
25. Гапоник П.Н. Дис. д-ра хим. наук. НИИФХПБГУ, Минск, 2000.
26. Cristau H.-J., Marat X., Vors J.-P., Pirat J.-L. Tetrahedron Lett., 44, 2003. P.3179.
27. Saalfrank R.W., Maid H. Chem. Commun., 2005. P.5953.
28. Tseng T.-W., Luo T.-T., Chen S.-Y., Su C.-C, Chi K.-M., Lu K.-L. Cryst. Growth Des., 13, 2013. P.510.
29. Li Q.-Y., Chen D.-Y., He M.-H., Yang G.-W., Shen L., Zhai C., Shen W., Gu K., Zhao J.-J. J. Solid State Chem., 190, 2012. P.196.
30. Yang T., Huang N., Meng L. RSC Adv., 3, 2013. P.4341.
31. Lunn W.H.W., Schoepp D.D., Calligaro D.O., Vasileff R.T., Heinz L.J., Salhoff C.R., O'Malley P.J. J. Med. Chem., 35, 1992. P.4608.
32. Costantino G., Maltoni K., Marinozzi M., Camaioni E., Prezeau L., Pin J.-P., Pellicciari R. Bioorg. Med. Chem., 9, 2001. P.221.

33. Ma D., Tian H. J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1, 1997. P.3493.
34. McMurray J.S., Khabashesku O., Birtwistle J.S., Wang W. Tetrahedron Lett, 41, 2000. P.6555.
35. Frølund B., Greenwood J.R., Holm M.M., Egebjerg J., Madsen U., Nielsen B., Bräuner-Osborne H., Stensbøl T.B., Krosgaard-Larsen P. Bioorg. Med. Chem., 13, 2005. P.5391.
36. Nagendra G., Narendra N., Sureshababu V.V. Indian J. Chem., Sect. B, 51, 2012. P.486.
37. Moutevelis-Minakakis P., Filippakou M., Sinanoglou C., Kokotos G. J. Pept. Sci., 12, 2006. P.377.
38. Yuan H., Silverman R.B. Bioorg. Med. Chem., 14, 2006. P.1331.
39. Hallinan E.A., Tsymbalov S., Dorn C.R., Pitzele B.S., Hansen D.W. J. Med. Chem., 45, 2002. P.1686.
40. Penke B., Toth G., Varadi G. In Amino Acids, Peptides and Proteins. (Ed. J.S.Davies). Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2006. P.129.
41. Oparina Yu.R., Trifonov R.E. Russ. J. Org. Chem., 49, 2013. P.909.
42. Butler R.N. In Comprehensive Heterocyclic Chemistry, 5 (Eds A.R.Katritzky, C.W.Ress). Pergamon Press, Oxford; New York, 1984. P.791.
43. Egebjerg J., Kukekov V., Heinemann S.F. Intron sequence directs RNA editing of the glutamate receptor α subunit GluR2 coding sequence. Proc. Natl Acad. Sci. USA, 91, 1994. P.10270-10274.
44. Colinridge G.L., Lester R.A. Pharmacol. Rev., 40, 1989. P.143.
45. Ornstein P.L., Arnold M.B., Augenstein N.K., Lodge D., Leander J.D., Schoepp D.D. J. Med. Chem., 36, 1993. P.2046.
46. Gilron I. Curr. Opin. Invest. Drugs, 2, 2001. P.1273.
47. Sang C.N., Hostetter M.P., Gracely R.H., Chappell A.S., Schoepp D.D., Lee G., Whitcup S., Caruso R., Max M.B. Anesthesiology, 89, 1998. P.1060.

48. Sang C.N., Ramadan N.M., Wallihan R.G., Chappell A.S., Freitag F.G., Smith T.R., Silberstein S.D., Johnson K.W., Phebus L.A., Bleakman D., Ornstein P.L., Arnold B., Tepper S.J., Vandenhende F. *Cephalalgia*, 24, 2004. P.596.
49. Ornstein P.L., Arnold M.B., Allen N.K., Bleisch T., Borromeo P.S., Lugar C.W., Leander J.D., Lodge D., Schoepp D.D. *J. Med. Chem.*, 39, 1996. P.2219.
50. Ornstein P.L., Arnold M.B., Allen N.K., Bleisch T., Borromeo P.S., Lugar C.W., Leander J.D., Lodge D., Schoepp D.D. *J. Med. Chem.*, 39, 1996. P.2232.
51. Bedingéeld J.S., Jane D.E., Kemp M.C., Toms N.J., Roberts P.J. *Eur. J. Pharmacol.*, 309, 1996. P.71.
52. Jane D.E., Pittaway K., Sunter D.C., Thomas N.K., Watkins J.C. *Neuropharmacology*, 34, 1995. P.851.
53. Shave E., Pliss L., Lawrance M.L., Gibbon T.F., Stastny F., Balcar V.J. *Neurochem. Int.*, 38, 2001. P.53.
54. Robinson M.B., Crooks S.L., Johnson R.L., Koerner J.F. *Biochemistry*, 24, 1985. P.2401.
55. Schulte M.K., Whittemore E.R., Koerner J.F., Johnson R.L. *Brain Res.*, 582, 1992. P.291.
56. BuÈhlmayer P., Furet P., Criscione L., de Gasparo M., Whitebread S., Schmidlin T., Lattmann R., Wood J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 4, 1994. P.29.
57. Young M.B., Barrow J.C., Glass K.L., Lundell G.F., Newton C.L., Pellicore J.M., Rittle K.E., Selnick H.G., Stauffer K.J., Vacca J.P., Williams P.D., Bohn D., Clayton F.C., Cook J.J., Krueger J.A., Kuo L.C., Lewis S.D., Lucas B.J., McMasters D.R., Miller-Stein C., Pietrak B.L., Wallace A.A., White R.B., Wong B., Yan Y., Nantermet P.G. *J. Med. Chem.*, 47, 2004. P.2995.
58. Dourlat J., Valentin B., Liu W.-Q., Garbay C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 17, 2007. P.3943.
59. McGuire J.J., Russell C.A., Bolanowska W.E., Freitag C.M., Jones C.S., Kalman T.I. *Cancer Res.*, 50, 1990. P.1726.
60. Blum L., Reymond J. *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, 131(25). P. 8732-8733.

61. Filimonov D.A., Poroikov V.V. Chemoinformatics Approach to Virtual Screening / Ed. By A. Varnek and A. Tropsha. Cambridge (UK): RSC Publishing, 2008. P.182–216.
62. Филимонов Д.А., Пороиков В.В. Российский химический журнал, 2, 2006. С. 66.
63. Гапоник П.Н. Химические проблемы создания новых материалов и технологий, Минск, 1998. С.185-214.
64. Гапоник П.Н., Каравай В.П., Давшко И.Е., Дегтярик М.М., Богатилов А.Н. Химия гетероциклических соединений, № 11, 1990. С.1528.
65. Гапоник П.Н., Каравай В.П., Григорьев Ю.В. Химия гетероциклических соединений, 11, 1995. С.1521-1524.
66. Чупрун С.С., Попова Е.А., Мухаметшина А.В., Трифонов Р.Е. Журнал орг. Химии, 51, 11, 2015.
67. Полякова С.М., Низовцев А.В., Кунецкий Р.А., Бовин Н. В. Известия академии наук. Серия химическая, 5, 2015. С.973-989.
68. Davies J.S., Karim A., Mohammed A. J. Chem. Soc. Perkin Trans, 11, 1984. P.1723-1727.
69. Анохина В.В., Зорина А.Д., Кузнецова Л.М. Методическое пособие к практическим работам по химии природных соединений, СПбГУ: СПб, 2013. С.46.
70. Myznikov L.V., Rohb J., Artamonova T.V., Hrabalek A. and Koldobskii G. I. Russ. J. of Org. Chem., 43, 5, 2007. P.765–767.

Приложение А

Данные ^1H ЯМР спектроскопии

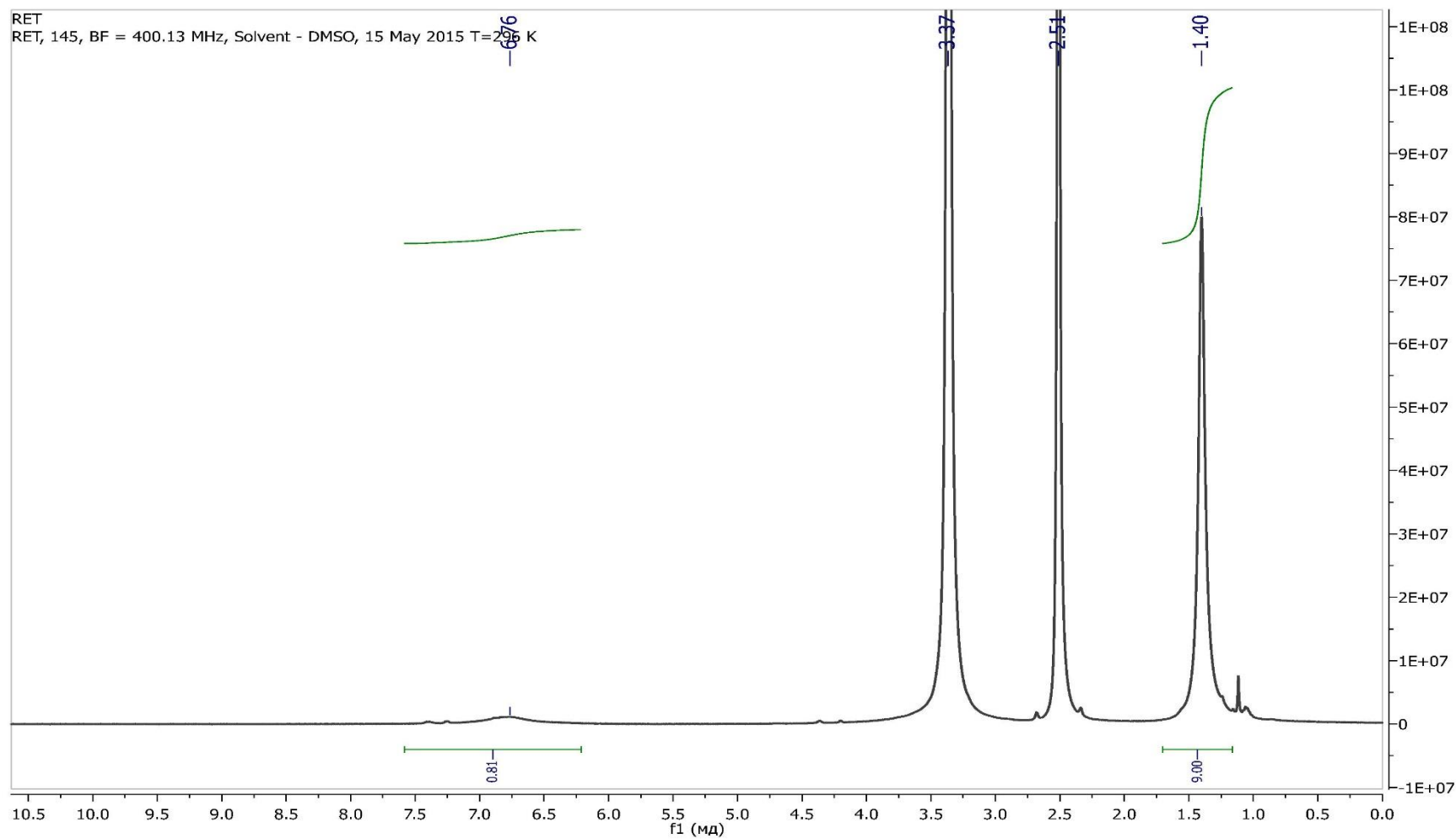


Рисунок А.1. Спектр ^1H ЯМР медного комплекса (2S)-2-амино-5-(ди-трет-бутилоксикарбонил)пентановой кислоты.

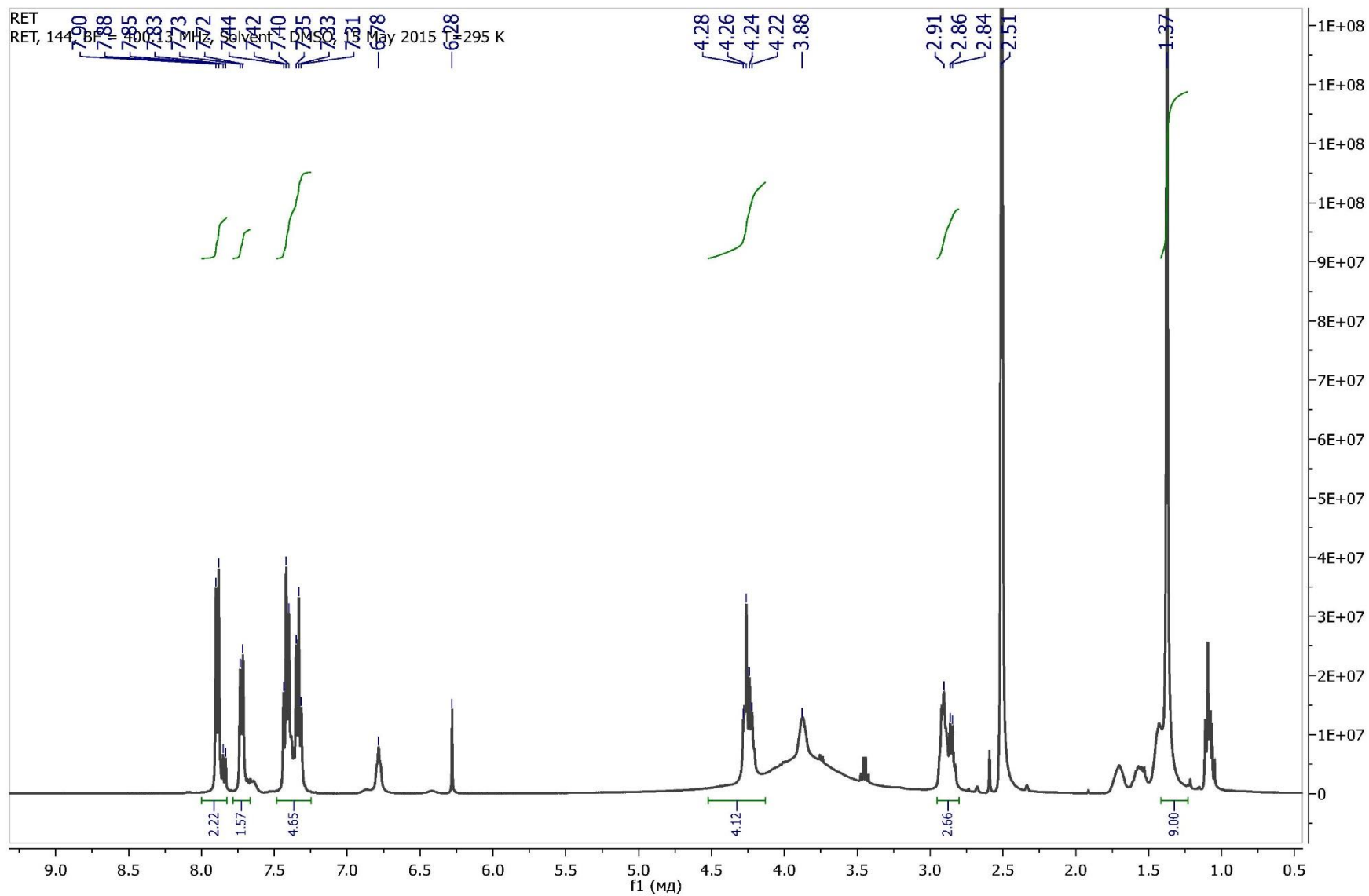


Рисунок А.2. Спектр ^1H ЯМР (2S)-2-(9H-флуорен-9-илметоксикарбонил)-5-ди-трет-бутилоксикарбонил)пентановой кислоты.

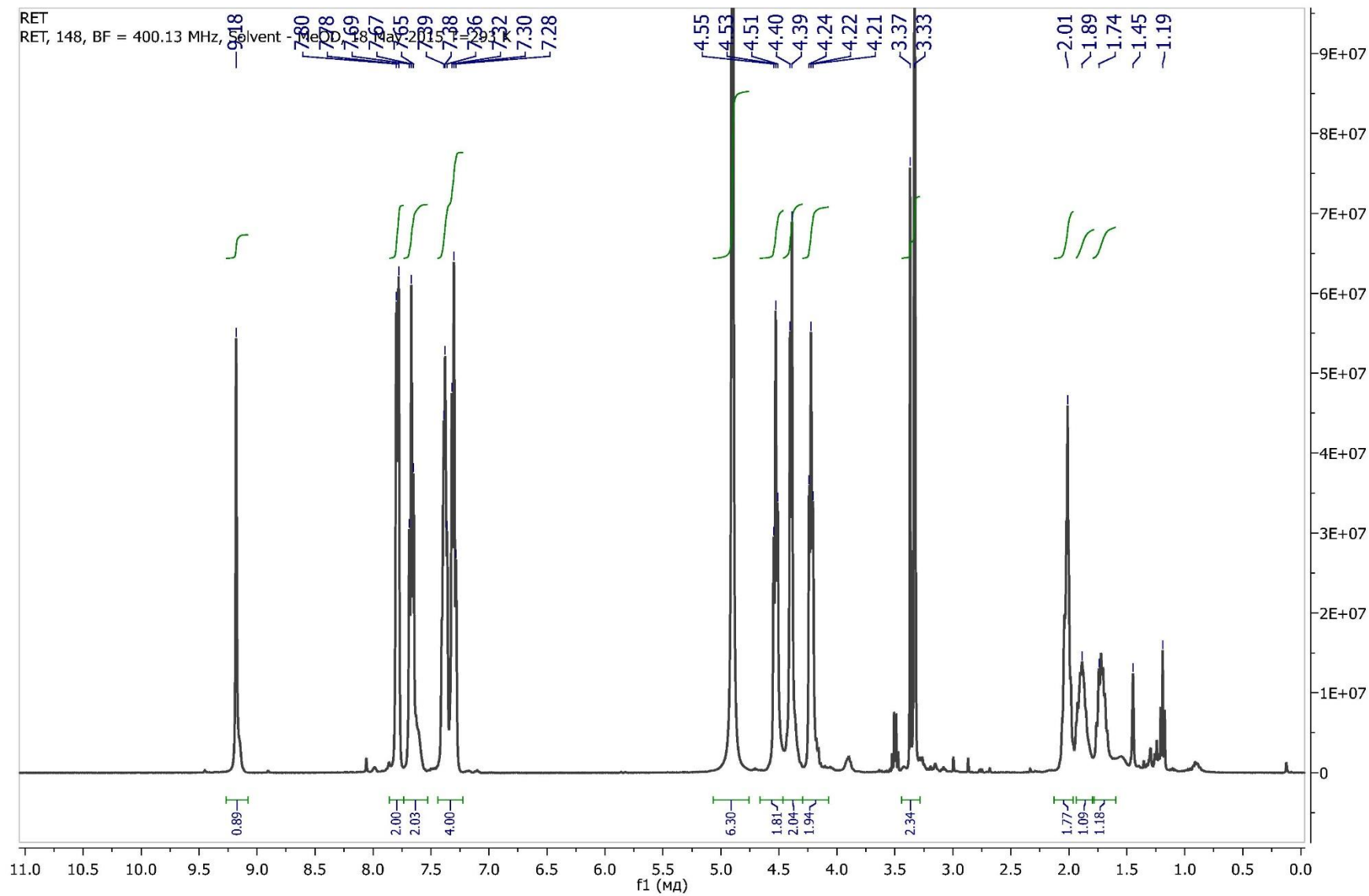


Рисунок А.3. Спектр ^1H ЯМР (2S)-2-(9H-флуорен-9-илметоксикарбонил)-5-(1H-тетразол-1-ил)пентановой кислоты.

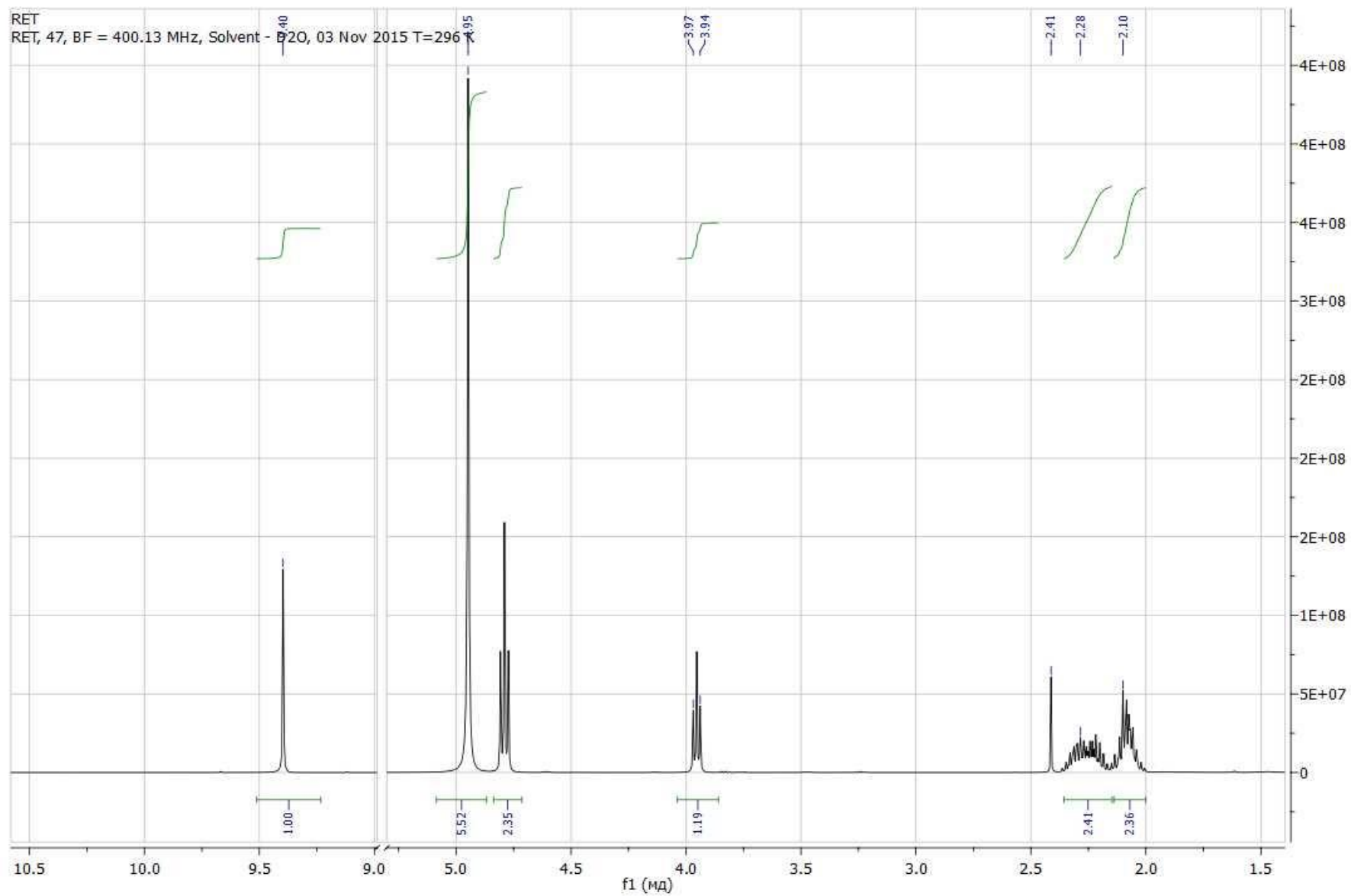


Рисунок А.4. Спектр ^1H ЯМР (2S)-2-амино-5-(1H-тетразол-1-ил)пентановой кислоты.

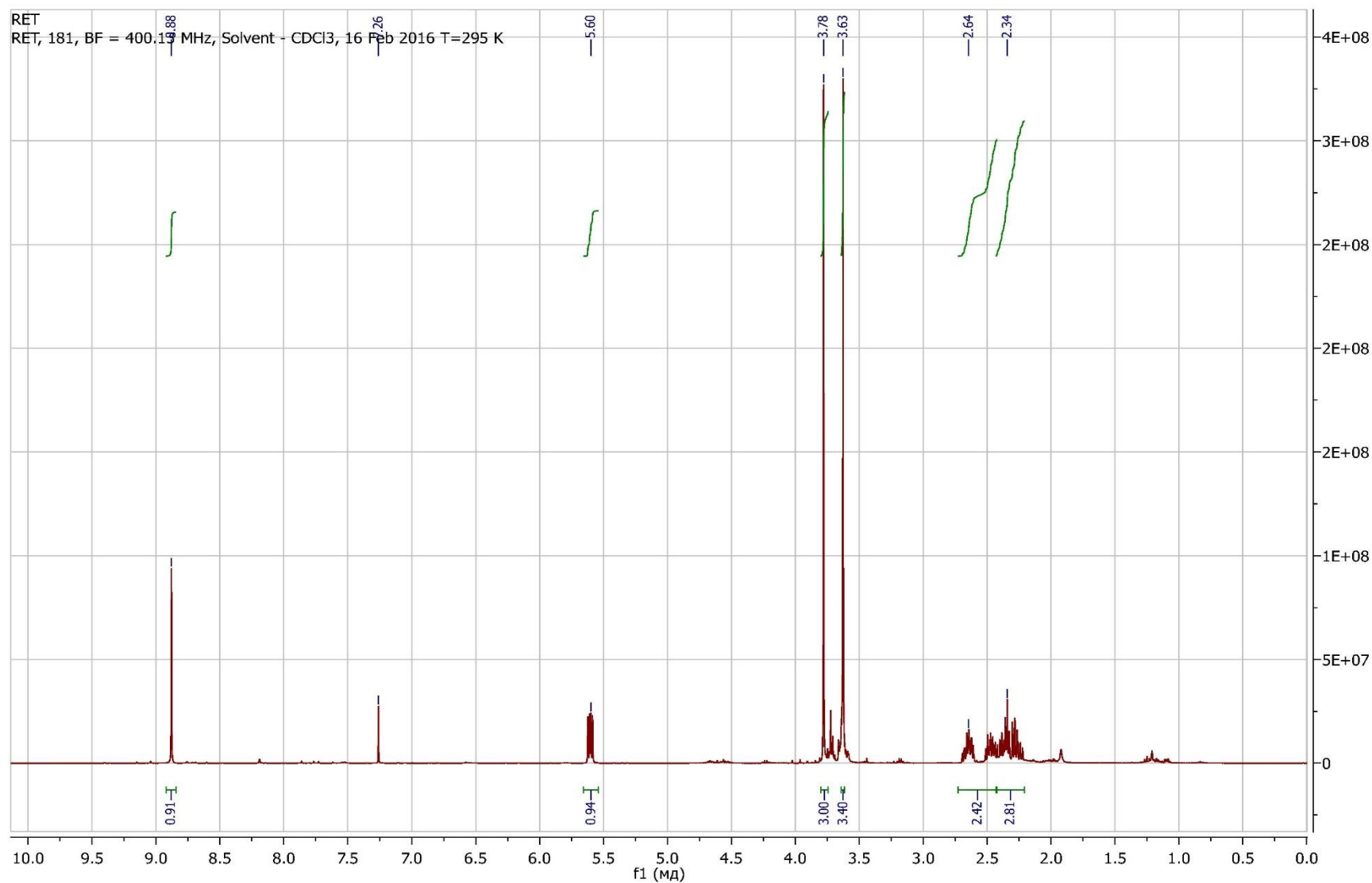


Рисунок А.5. Спектр ¹H ЯМР диметилового эфира 2-(1H-тетразол-1-ил)пентановой кислоты.

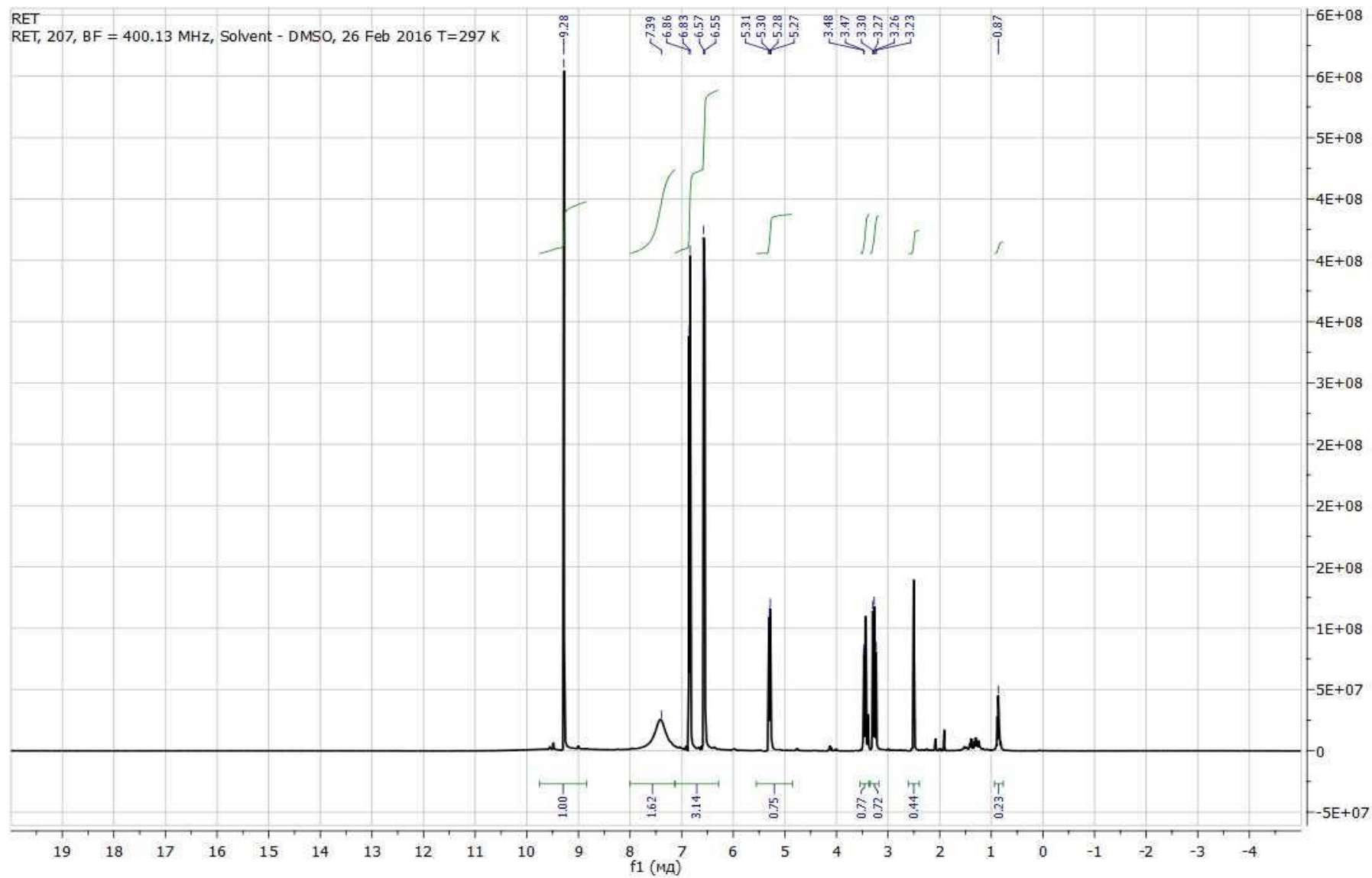


Рисунок А.6. Спектр ^1H ЯМР 3-(4-гидроксифенил)-2-(1H-тетразол-1-ил)пропановой кислоты.

Приложение Б

Данные ^{13}C ЯМР спектроскопии

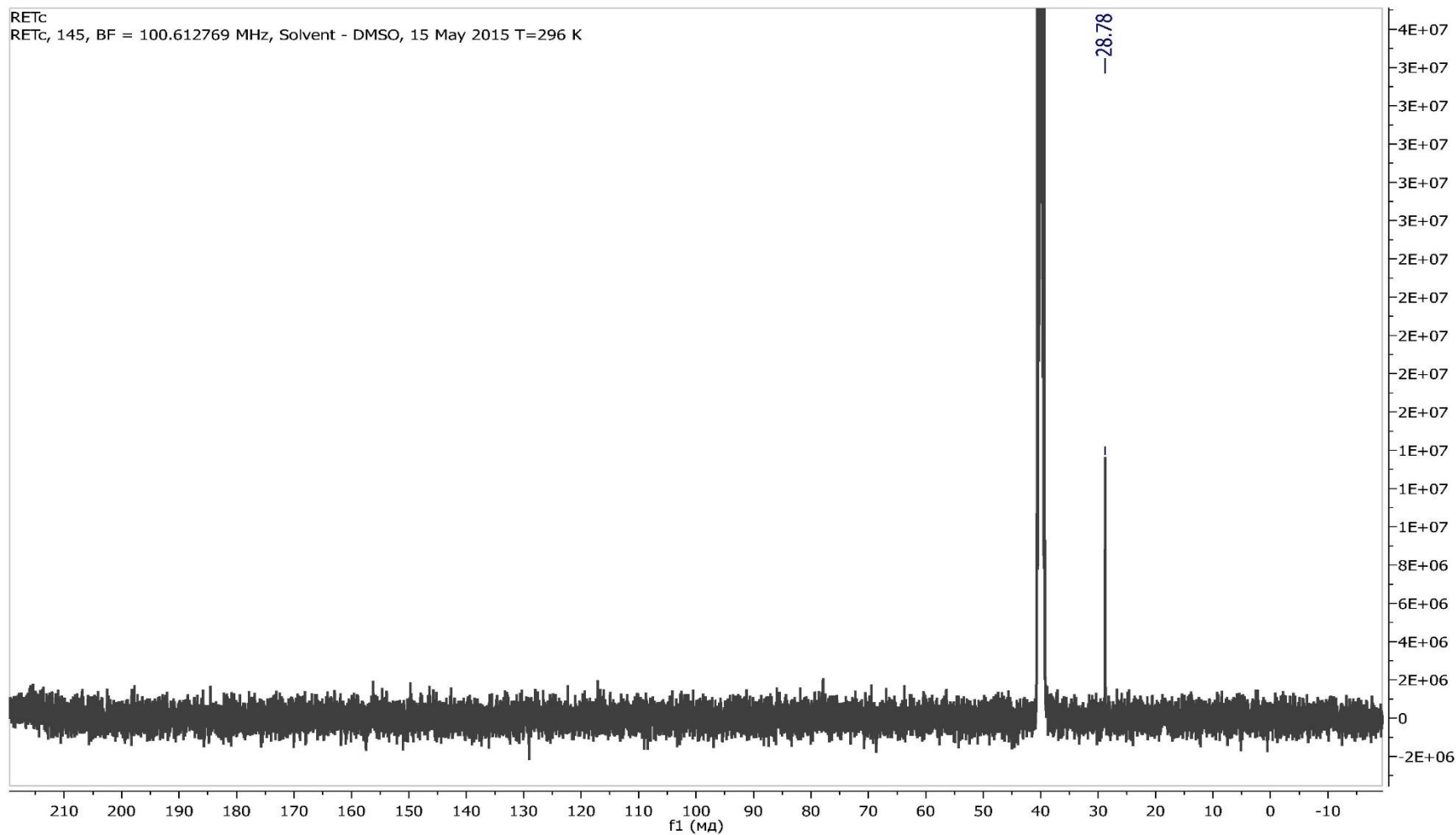


Рисунок Б.1. Спектр ^{13}C ЯМР медного комплекса (2S)-2-амино-5-(ди-трет-бутилоксикарбонил)пентановой кислоты.

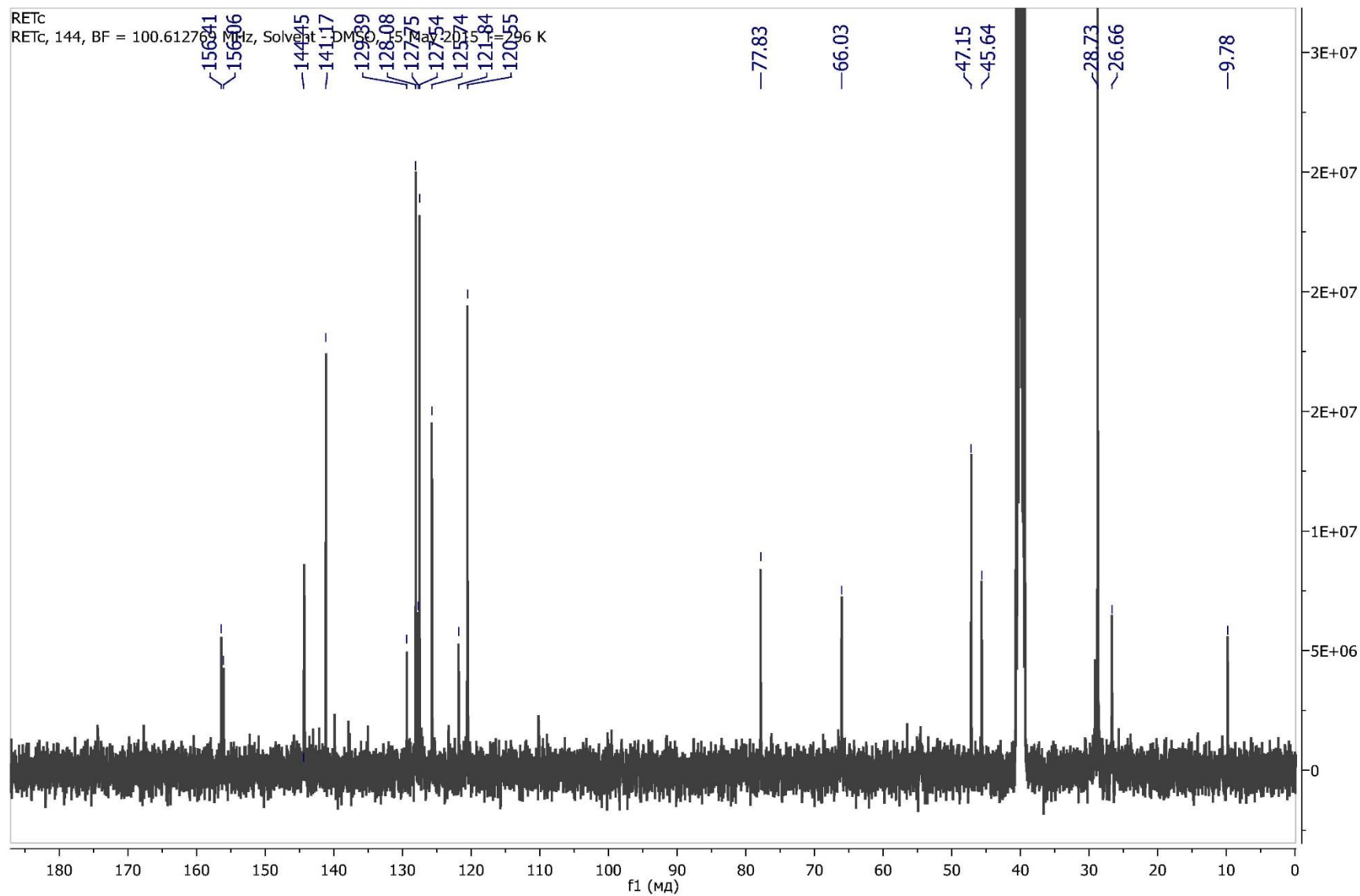


Рисунок Б.2. Спектр ^{13}C ЯМР (2S)-2-(9H-флуорен-9-илметоксикарбонил)-5-ди-трет-бутилоксикарбонил)пентановой кислоты.

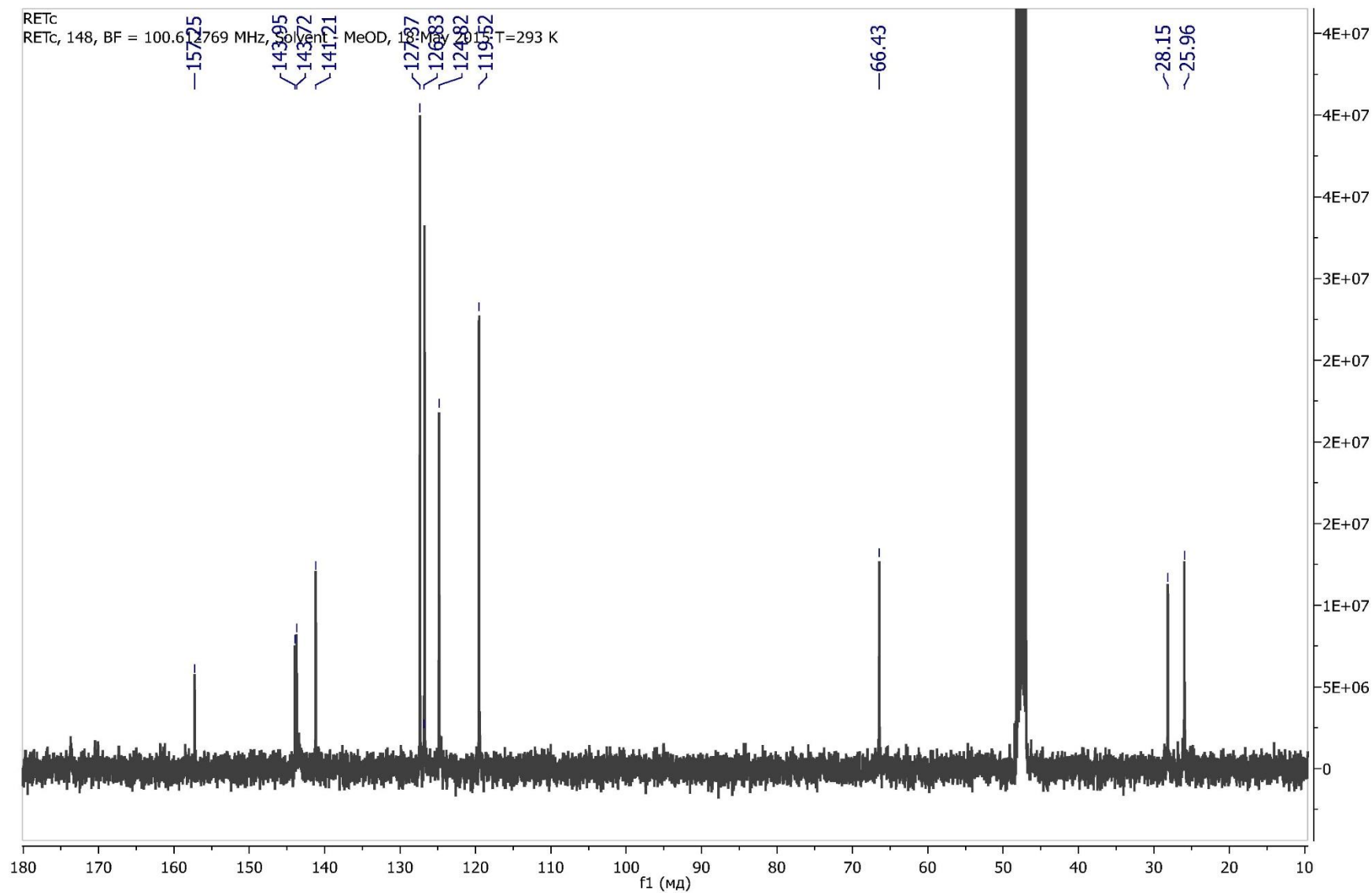


Рисунок Б.3. Спектр ^{13}C ЯМР (2S)-2-(9H-флуорен-9-илметоксикарбонил)-5-(1H-тетразол-1-ил)пентановой кислоты.

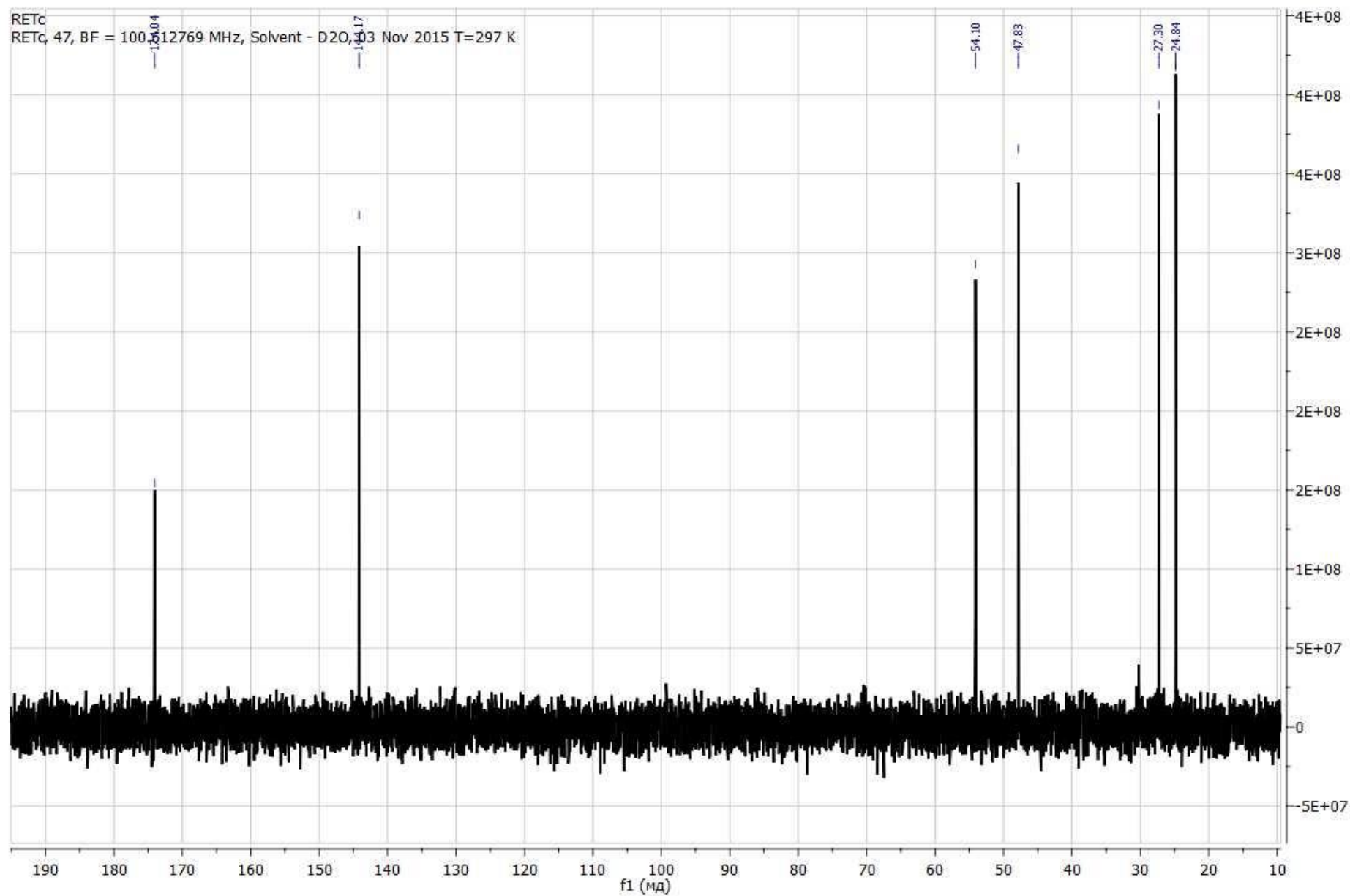


Рисунок Б.4. Спектр ^{13}C ЯМР (2S)-2-амино-5-(1H-тетразол-1-ил)пентановой кислоты.

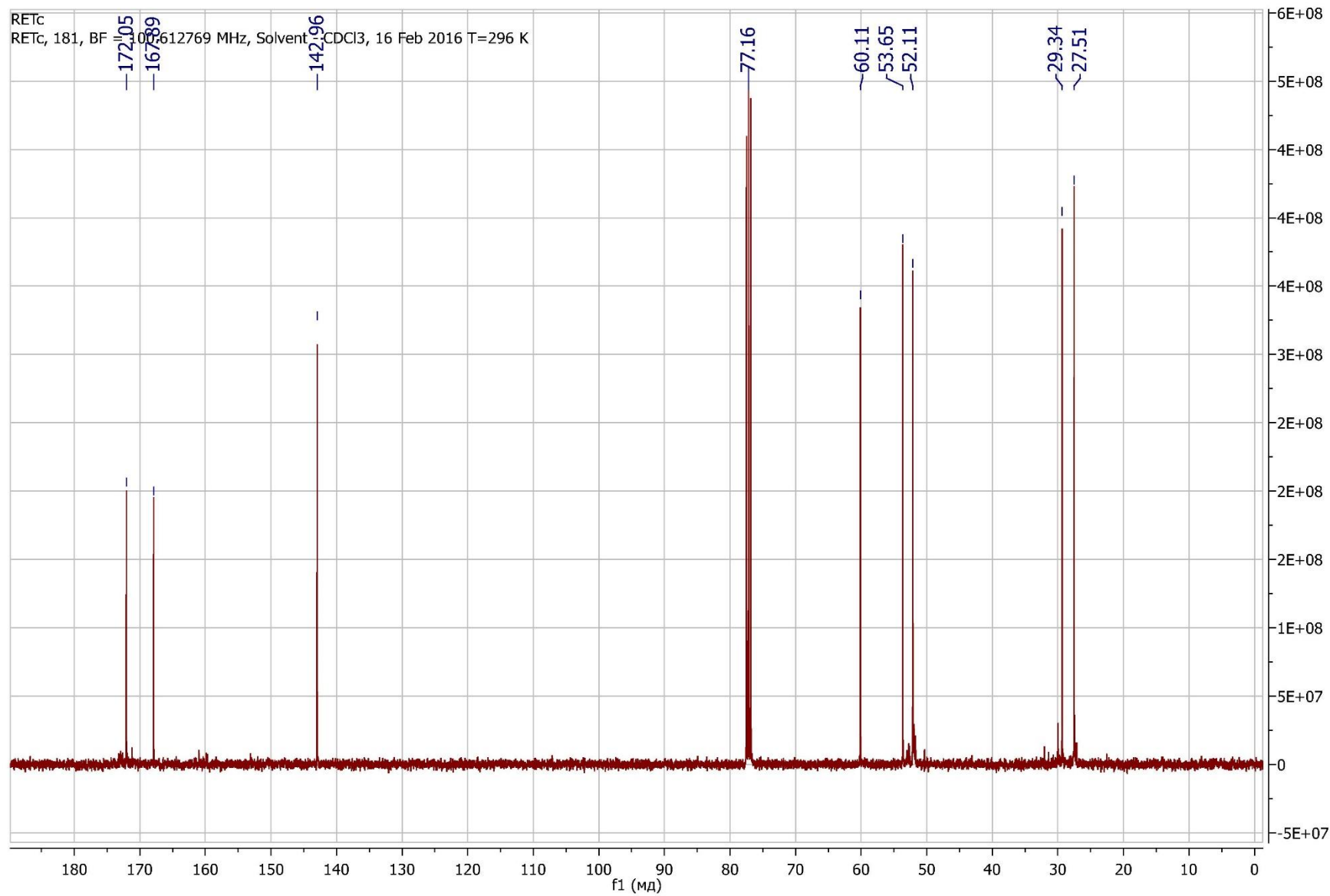


Рисунок Б.5. Спектр ^{13}C ЯМР диметилового эфира 2-(1H-тетразол-1-ил)пентановой кислоты.

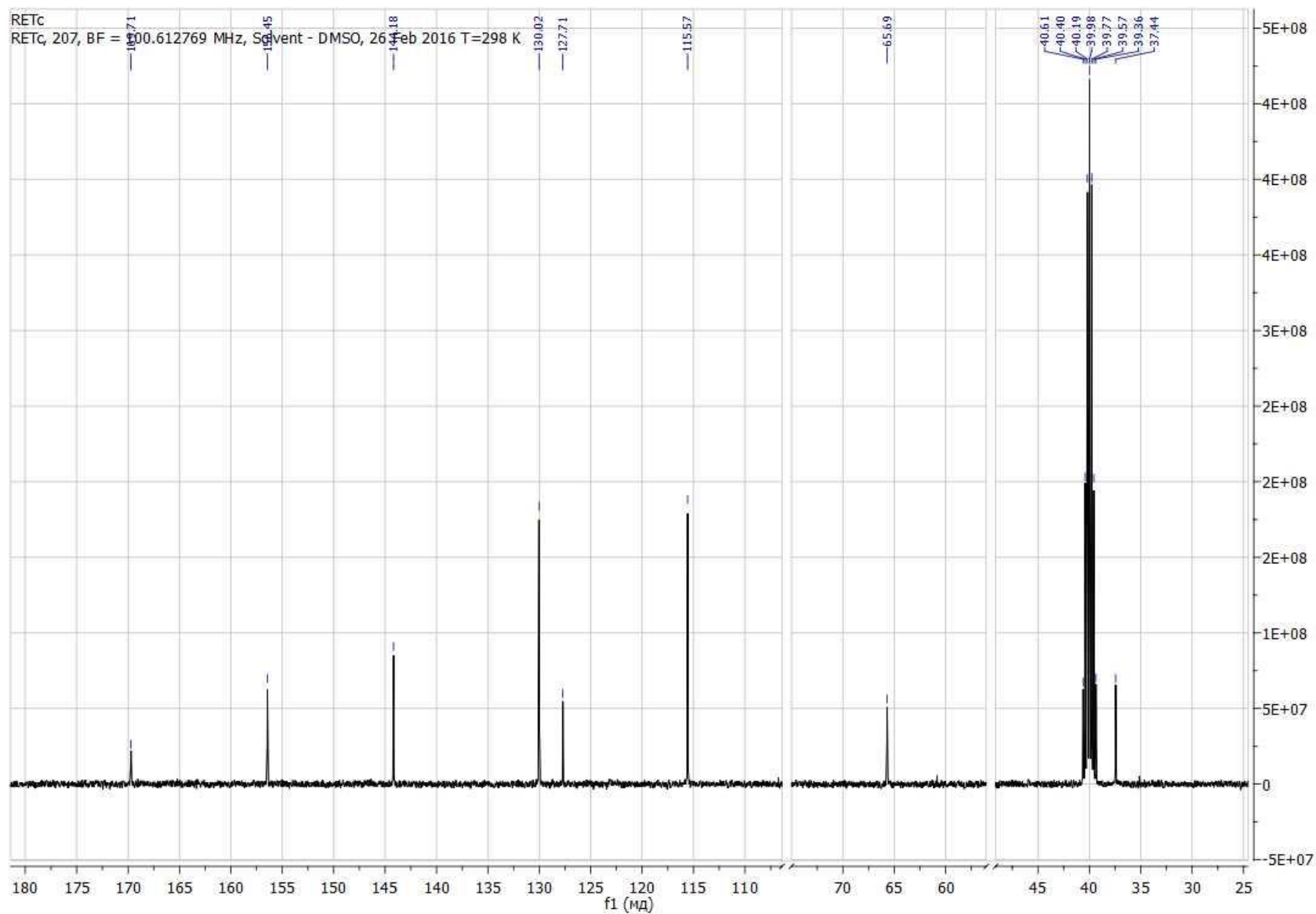


Рисунок Б.6. Спектр ^{13}C ЯМР 3-(4-гидроксифенил)-2-(1H-тетразол-1-ил)пропановой кислоты.

Приложение В

Данные масс-спектрометрии

Analysis Info

Analysis Name D:\Data\Work\2015\May\18\Ret_145_000004.d
Method tune_low_pos.m
Sample Name Ret_145_
Comment

Acquisition Date 5/18/2015 10:31:47 AM

Operator BDAL@DE
Instrument maXis 62

Acquisition Parameter

Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Nebulizer	1.0 Bar
Focus	Active	Set Capillary	4500 V	Set Dry Heater	180 °C
Scan Begin	100 m/z	Set End Plate Offset	-500 V	Set Dry Gas	4.0 l/min
Scan End	1100 m/z	Set Collision Cell RF	300.0 Vpp	Set Divert Valve	Source

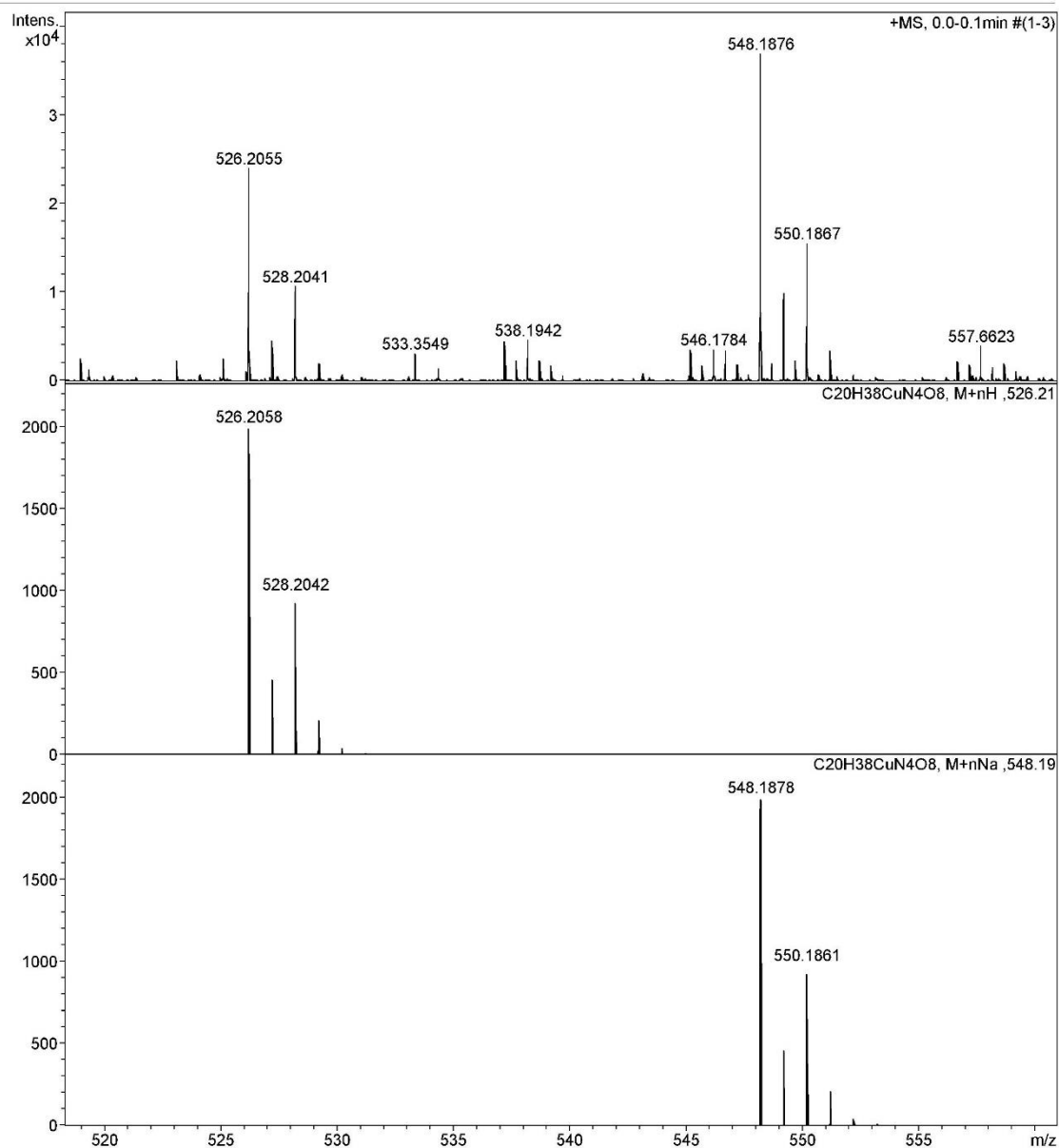


Рисунок В.1. Масс-спектр медного комплекса (2S)-2-амино-5-(ди-трет-бутилоксикарбонил)пентановой кислоты.

Analysis Info

Analysis Name D:\Data\Work\2015\May\13\RET_144_.d
Method tune_low_pos.m
Sample Name RET_144_
Comment

Acquisition Date 5/13/2015 11:21:44 AM

Operator BDAL@DE
Instrument maXis 62

Acquisition Parameter

Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Nebulizer	1.0 Bar
Focus	Active	Set Capillary	4500 V	Set Dry Heater	180 °C
Scan Begin	100 m/z	Set End Plate Offset	-500 V	Set Dry Gas	4.0 l/min
Scan End	1100 m/z	Set Collision Cell RF	300.0 Vpp	Set Divert Valve	Source

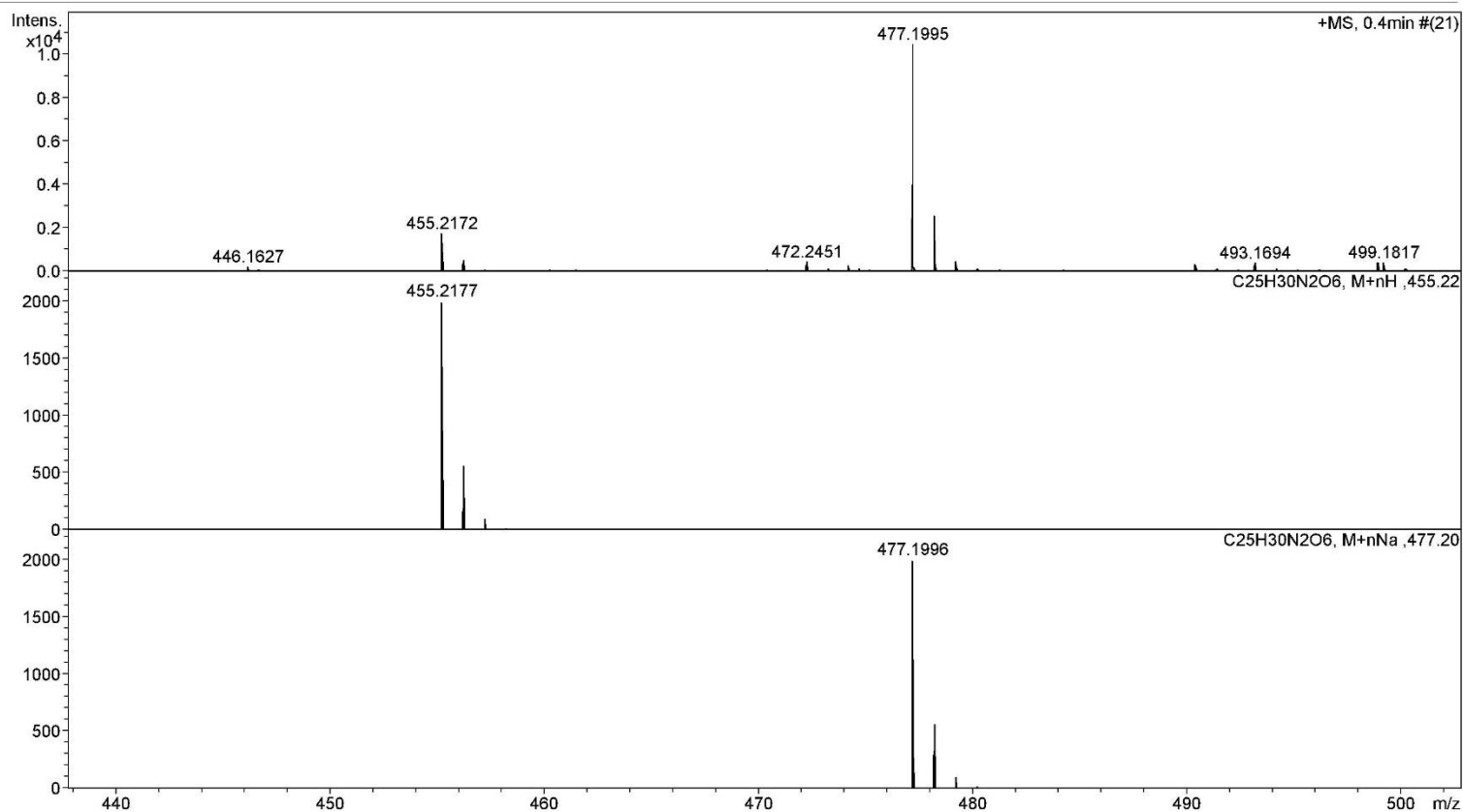


Рисунок В.2. Масс-спектр (2S)-2-(9H-флуорен-9-илметоксикарбонил)-5-ди-трет-бутилоксикарбонил)-пентановой кислоты.

Analysis Info

Analysis Name D:\Data\Work\2015\May\18\Ret_147_000001.d
Method tune_low_pos.m
Sample Name Ret_147_
Comment

Acquisition Date 5/18/2015 10:24:00 AM

Operator BDAL@DE
Instrument maXis 62

Acquisition Parameter

Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Nebulizer	1.0 Bar
Focus	Active	Set Capillary	4500 V	Set Dry Heater	180 °C
Scan Begin	100 m/z	Set End Plate Offset	-500 V	Set Dry Gas	4.0 l/min
Scan End	1100 m/z	Set Collision Cell RF	300.0 Vpp	Set Divert Valve	Source

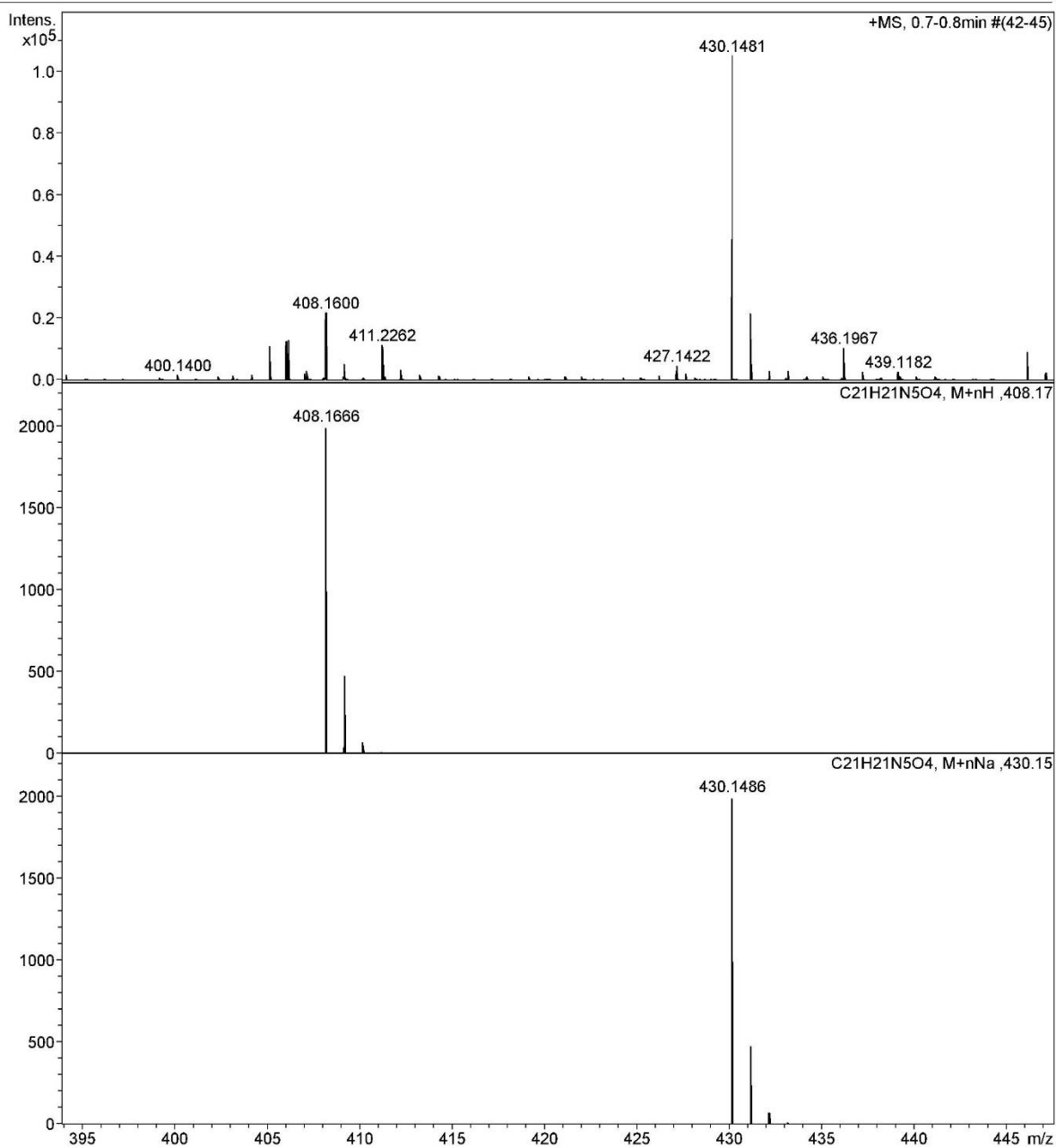


Рисунок В.3. Масс-спектр (2S)-2-(9H-флуорен-9-илметоксикарбонил)-5-(1H-тетразол-1-ил)пентановой кислоты.

Analysis Info

Analysis Name D:\Data\Work\2016\January\29\PAV_27_000001.d
Method tune_low_pos.m
Sample Name PAV_27_
Comment

Acquisition Date 1/29/2016 3:15:40 PM

Operator BDAL@DE
Instrument maXis 62

Acquisition Parameter

Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Nebulizer	1.0 Bar
Focus	Active	Set Capillary	4500 V	Set Dry Heater	180 °C
Scan Begin	50 m/z	Set End Plate Offset	-500 V	Set Dry Gas	4.0 l/min
Scan End	1100 m/z	Set Collision Cell RF	300.0 Vpp	Set Divert Valve	Waste

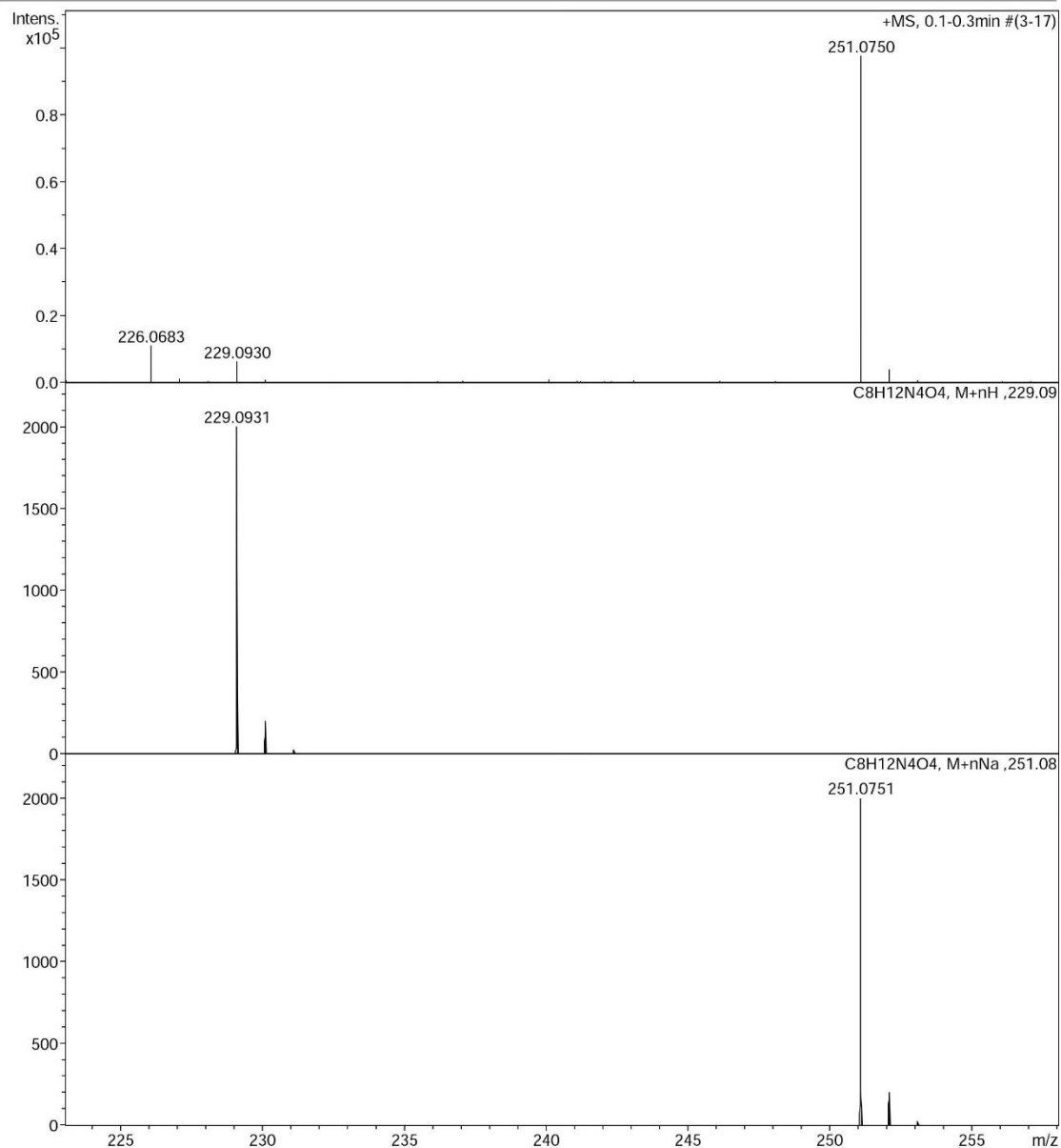


Рисунок В.4. Масс-спектр диметилового эфира 2-(1Н-тетразол-1-ил)пентановой кислоты.